

**EINFLUSS VON CHOLIN AUF DIE ANTIKÖRPERBILDUNG
UND PHAGOZYTÖSE BEI RATTEN**

Hubertus Glaser

1977

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Hermann Zucker
Arbeit angefertigt unter Leitung von
Priv.-Doz. Dr. U. Lösch

EINFLUSS VON CHOLIN AUF DIE ANTIKÖRPERBILDUNG
UND PHAGOZYTOSE BEI RATTEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Hubertus Glaser

aus

München

München 1977

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Priv.- Doz. Dr. U. Lösch
Korreferent: Prof. Dr. D. O. Schmid

Tag der Promotion: 25. Februar 1977



Druck: Dissertationsdruck Novotny jr., 8135 Söcking/Starnberg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	3
2.1 Einfluß von Vitaminen auf die humorale Antikörperbildung	3
2.1.1 Vitamin A	6
2.1.2 Vitamin D	11
2.1.3 Vitamin E	13
2.1.4 B-Vitamine	15
2.1.4.1 Thiamin	16
2.1.4.2 Riboflavin	17
2.1.4.3 Pyridoxin	20
2.1.4.4 Pantothensäure	23
2.1.4.5 Folsäure	26
2.1.4.6 Vitamin B ₁₂	28
2.1.4.7 Nikotinsäure, Biotin	29
2.1.5 Vitamin C	32
2.1.6 Vitamin-Komplexe	34
2.2 Besprechung der Literaturbefunde unter besonderer Berücksichtigung der Variablen in der Versuchs- anordnung	37
2.2.1 Tiermaterial	37
2.2.1.1 Spezies	37
2.2.1.2 Stamm	38
2.2.1.3 Geschlecht	38
2.2.1.4 Alter	38
2.2.2 Vitaminversorgung	38
2.2.2.1 Mangeldiät	38
2.2.2.2 Depletion	39
2.2.2.3 Vitaminstatus	39
2.2.2.4 Zeitpunkt	39

	Seite
2.2.3 Antigen-Applikation	40
2.2.3.1 Dosierung	40
2.2.3.2 Immunogenität	40
2.2.3.3 Booster	41
2.2.4 Antikörperbestimmung	41
2.2.4.1 Verfahren	41
2.2.4.2 Zeitpunkt	42
2.3 Allgemeine Bedeutung von Cholin	42
3. Eigene Untersuchungen	43
3.1. Methodik	43
3.1.1 Tiermaterial, Haltung der Versuchstiere	43
3.1.2 Cholin- und Betainapplikation	43
3.1.3 Immunologische Untersuchungen	43
3.1.3.1 Antigen	43
3.1.3.2 Immunisierung	44
3.1.3.3 Blutentnahme	44
3.1.3.4 Antikörperbestimmungsverfahren	44
3.1.4 Phagozytose-Testverfahren	45
3.1.5 Cholin-Bestimmung	46
3.1.6 Histologische Untersuchungen	47
3.1.7 Statistik	47
3.2 Ergebnisse	48
3.2.1 Voruntersuchungen	48
3.2.2 Einfluß von Cholin und Betain auf die Antikörperbildung	50
3.2.3 Einfluß parenteraler Cholin- bzw. Betain-applikation auf Körper- und Lebergewicht sowie Cholingehalt in Serum und Leber	53
3.2.4 Einfluß von Cholin auf die Leukozytenzahl im Blut	55
3.2.5 Einfluß von Cholin auf die Aktivität des RES in der Leber	56
3.2.6 Einfluß von Cholin auf die Phagozytoserate	56
4. Diskussion	58
5. Zusammenfassung	61
6. Literaturverzeichnis	63

1. EINLEITUNG

Der Suche nach Wirkstoffen, die die Abwehrmechanismen eines Organismus zu aktivieren vermögen, kommt seit dem gehäuften Auftreten therapieresistenter Erregerstämme und sog. Faktorenerkrankungen immer größere Bedeutung zu. Der Einsatz von Antibiotika, Chemotherapeutika und Impfstoffen erbringt bei diesen Erkrankungen auf Grund der Vielfalt ihrer Ursachen häufig nicht den erwarteten Erfolg.

Unter einer Vielzahl in dieser Hinsicht Beachtung verdienender Nahrungsfaktoren sind die Vitamine bereits seit geraumer Zeit Gegenstand intensiver Untersuchungen.

In vorliegender Arbeit wurde die Antikörperbildung von Ratten nach parenteraler Cholin-Zufuhr untersucht. Darüberhinaus wurde Betain in die Untersuchungen mit einbezogen, da diese Substanz bei Ratten in enger biochemischer Wechselbeziehung zu Cholin steht (52, 82, 157, 183) und in ihrer physiologischen Wirkung cholinähnlichen Charakter zeigt (82, 90, 173).

Die unspezifische Resistenz von Labortieren, gemessen an der Phagozytoseaktivität des reticuloendothelialen Systems (RES), wird durch parenterale Zufuhr von Cholinchlorid gesteigert (3, 4, 33, 61, 62). Untersuchungen über die Abhängigkeit der RES-Aktivität vom Cholinangebot in der Diät führten hingegen zu keinen einheitlichen Ergebnissen (26, 138).

Die phagozytosesteigernde Wirkung des Cholins läßt sich vermutlich auf eine Stimulierung der Transformation reticuloendothelialer Zellen zurückführen. Unter Cholin-Zufuhr wurde bei Labortieren eine ausgeprägte Vermehrung des lymphatischen und reticuloendothelialen Gewebes in Lymphknoten und Knochenmark beobachtet (186); die Umwandlung von Endoblastzellen in Makrophagen lief beschleunigt ab (4, 35, 136); in Leber und Milz wurde eine histiozytäre Proliferation mit ausgeprägter Makrophageninfiltration beobachtet (24, 79, 124, 160); das Blutbild zeigte eine Leukozytose (35, 186).

Der Cholineffekt auf die Vorgänge der Zelltransformation wird mit dem Einfluß des Vitamins auf die Proteinsynthese sowie den Aufbau

und die Funktion biologischer Membranen in Verbindung gebracht: Bei cholinarm ernährten Ratten war die Albumin- und Lipoproteinkonzentration im Serum vermindert (48, 105). Eine strukturelle und funktionelle Beeinträchtigung der Lysosomenmembran, des endoplasmatischen Retikulums sowie des Golgi-Apparates trat unter Cholin-Mangel auf (32, 96, 131, 139).

Die Cholin-Wirkung auf das RES läßt sich nicht über den Mechanismus einer erhöhten Lecithin- oder Azetylcholinbildung erklären, da diese Substanzen die Phagozytosefähigkeit der RES-Zellen beeinträchtigen (24, 54, 73).

Da die Phagozytose des Antigens im allgemeinen Voraussetzung für die humorale Immunitätsausbildung ist (127, 160), läge ein der RES-Wirksamkeit des Cholin analoger Einfluß des Vitamins auf die Immunglobulinbildung nahe. Bezüglich dieser Fragestellung ist lediglich bekannt, daß Cholin in vitro die Antikörperbildung strahlengeschädigten Lebergewebes stimuliert (186). Des weiteren wurde bei Nachkommen von Ratten, die mit einer Cholin-Methionin-Mangeldiät versorgt worden waren, eine verminderte Immunantwort beobachtet (48). Demgegenüber zeigte die Antikörperbildungskapazität von Cholin-Mangelratten keine Abweichung von der Norm; dieser im Rahmen anderer Untersuchungen beobachtete Nebenfund scheint jedoch experimentell nicht abgesichert zu sein (6).

Da sich aus den Ergebnissen vorliegender Arbeit kein Hinweis auf eine immunologische Wirksamkeit von Cholin ergab, wurde in ergänzenden Untersuchungen der Einfluß des Vitamins auf die Phagozytoserate des RES, die Leukozytenzahl im Blut sowie die Proliferation der RES-Zellen in der Leber überprüft.

2. L I T E R A T U R

2.1. Einfluß von Vitaminen auf die humorale Antikörperbildung

Eine Reihe Vitamine spielt eine bedeutende Rolle innerhalb des komplexen Abwehrsystems eines Organismus. Dieses Abwehrsystem setzt sich aus unspezifischen, das heißt gegen eine Vielzahl von Infektionserregern gerichteten Faktoren (Resistenz) und spezifischen, sich nur gegen bestimmte Erreger (Antigene) entwickelnde Mechanismen (Immunität) zusammen (103).

Die Ausbildung der Immunität vollzieht sich auf zellvermittelter und humoraler Ebene. Während die unmittelbaren Träger der zellvermittelten Immunität die Lymphozyten des Blutes und der lymphatischen Organe sind, beruht die humorale Immunität auf der Bildung spezifischer Antikörper, die, molekular gesehen, einer der Immunglobulinklassen angehören.

Im Hinblick auf die eigene Arbeit sind in der folgenden Literaturübersicht die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über den Einfluß von Vitaminen auf die Immunglobulinbildung zusammengefaßt. Die Befunde werden ausführlich diskutiert unter besonderer Berücksichtigung der Variablen in der Versuchsanordnung, die zur Erklärung der Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen verschiedener Autoren herangezogen werden können (s.2.2).

Erläuterungen zu den Tabellen:

Zur Überprüfung der immunologischen Wirksamkeit von Vitaminen werden grundsätzlich zwei Wege beschritten: 1) Erzeugung eines Vitaminmangels; 2) Zusätzliche Applikation des Vitamins bei konventioneller Ernährung. Im letzteren Fall sind in den Tabellen die Dosierung sowie Applikationsart des jeweiligen Vitamins angegeben.

Die Publikationen sind in der jeweiligen Tabelle in der Reihenfolge ihres zeitlichen Erscheinens aufgeführt.

Neben Spezies, Antigen, und Antikörperbestimmungsverfahren ist der Zeitpunkt der Immunisierung nach Versuchsbeginn angegeben. Positives bzw. negatives Ergebnis bedeutet eine Steigerung bzw. Verminderung der Immunantwort.

Verzeichnis der in den Tabellen angeführten Abkürzungen:

ABC	Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test
AG-Elim.	Antigeneliminierungstest
A.klin. M-Sympt.	Auftreten klinischer Mangelsymptome
AK-Best.-Verf.	Antikörperbestimmungsverfahren
Appl.	Applikation
ASR	Antistreptolysinreaktion
BGG	Bovines Gammaglobulin
BSA	Bovines Serumalbumin
Erythrozyt.	Erythrozyten
h	Stunde
HA	Hämagglutinationsreaktion
HAH	Hämagglutinations-Hemmungstest
HR	Hämolysereaktion
HSA	Human-Serumalbumin
IF	Immunofluoreszenztest
Imm.-Ztp.n. V-Beg.	Immunisierungszeitpunkt nach Versuchsbeginn
i.m.	intramuskulär
i.n.	intranasal
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
KBR	Komplementbindungsreaktion
k.E.	kein Einfluß
KG	Körpergewicht
Meerschw.	Meerschweinchen
Msch.	Mensch
n.d.	nicht definiert
neg.	negativ
NT	Neutralisationstest

OVA	Ovalbumin
pos.	positiv
PR	Präzipitationsreaktion
PVM-V.	Mäuse-Pneumonie-Virus
Rd.	Rind
s.c.	subcutan
Schf.	Schaf
Tg.	Tag
Vit.	Vitamin
WEE-V.	Western Equine Encephalomyelitis-Virus
Wo.	Woche

2.1.1. Vitamin A

Dem Vitamin A kommt bereits seit geraumer Zeit als "antiinfektiöses" und "Epithelschutz-Vitamin" große Bedeutung zu (29, 108, 162, 182). Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, führt ein Vitamin A-Mangel i.d.R. zu einer Beeinträchtigung der Immunantwort.

Die Phagozytose des Antigens, zumeist Voraussetzung für die Antikörperbildung (127, 160), sank nach Gellhorn und Dunn bei Ratten mit zunehmendem Vitamin A-Mangel ab (49) und konnte durch erneute Zufuhr des Vitamins innerhalb geraumer Zeit wieder angehoben werden (26).

Trotz umfangreicher Literatur ist die genaue Wirkungsweise zusätzlicher Vitamin A-Gaben, die des öfteren zu einer Steigerung der Antikörperbildung führen (s. Tab. 1), noch nicht eindeutig geklärt.

Diesbezügliche Arbeiten wurden in der Dissertationsschrift von Beck (16) ausführlich besprochen und sollen im Folgenden nur zusammengefaßt erwähnt werden.

Die immunitätssteigernde Wirkung des Vitamin A beruht möglicherweise auf einer Labilisierung der Membranen immunkompetenter Zellen, der äußeren Zellmembran und - intrazellulär - der Lysosomenmembran, in deren Folge der Eintritt des Antigens in das Zellinnere und die anschließende Immunglobulinsynthese gefördert werden (31, 34, 42, 78, 160, 172).

Auch scheint das Vitamin A, wiederum über den Mechanismus der Labilisierung lysosomaler Membranen, die Transformation und Vermehrung immunologisch aktiver Zellen zu stimulieren (15, 37, 40, 117, 150, 159).

Die Verabreichung einer Vitamin A - Mangeldiät bzw. zusätzliche parenterale Vitamin A - Zufuhr zogen bei Ratten eine deutliche Verminderung bzw. Steigerung des Nucleinsäuregehaltes in den Organen nach sich (47, 115). Diese Befunde sind insofern von immunologischer Bedeutung, als die Vermehrung immunkompetenter Zellen und die Bildung von Antikörperprotein von dem Nucleinsäurenangebot abhängig sind.

Tabelle 1

Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung

Vitamin A - Mangel *

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V.-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Ratte und Kaninchen	B.typhosus (i.v./i.p.)	A.klin. M-Sympt.	HA	k.E.	Werkman 1923 (174)
Ratte	B.coli (i.p.)	n.d.	HA	k.E.	Cramer et al. 1924 (28)
	S.typhi (i.p.)	n.d.	HA	k.E.	
Ratte	S.paratyphi (n.d.)	n.d.	HA	neg.	Blackberg 1927 (18)
Kaninchen	S.typhi (i.v.)	6-8 Wo.	HA	neg.	Greene 1933 (56)
	Erythroz. Schf./Rd. (i.v.)	6-8 Wo.	HA	neg.	
Ratte	S.Danysz (i.p.)	A.klin. M-Sympt.	HA	k.E.	Natvig 1941 (114)
Mensch	Influenza- V. (n.d.)	17 Wo.	NT	k.E.	Feller et al. 1942 (43)
Ratte	Erythroz. Msch. (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Ludovici et al. 1951 (98)
Ratte	Diphth.- Toxoid (i.p.)	12 Tg.	HA	neg.	Pruzansky et al. 1955 (121)
Maus	Influenza- V. Schw. (i.n.)	4 Wo.	HAH	k.E.	Underdahl et al. 1956 (162)
Schwein	S.pullo- rum (n.d.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	Harmon et al. 1960 (58)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung

Vitamin A - Mangel *

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V.-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Schwein	S.pullo- rum (i.p.)	n.d.	HA	neg.	Harmon et al. 1963 (57)
	Erythro- z. (i.p.)	n.d.	HA	neg.	
Huhn	S.pullo- rum (i.v.)	4 Wo.	HA	neg.	Panda et al. 1963 (117)
Ratte	Erythro- z. Schf. (i.p.)	4 Wo.	HA/HR	neg.	Krishnan et al. 1974 (89)
	Diphth.- Toxoid (i.m.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	
	Tetanus- Toxoid (i.m.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung

Vitamin A - Zufuhr*

Vitamin A- zufuhr Dosis; Appl.)	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
it.A-Säure 8mg/Tier, oral; 3 Tg.)	Meersch.	Bakterio- phage (i.v.)	2 Tg.	NT	k.E.	Uhr et al. 1963 (161)
it.A-Palmi- at 10 ⁶ I.E./ Tier, i.p.; Tg.)	Meersch.	Bakterio- phage (i.v.)	V-Beg.	NT	pos.	Uhr et al. 1965 (160)
etinol 10 ⁶ I.E./ Tier, i.m.; Tg.)	Meersch.	Bakterio- phage	V-Beg.	NT	pos.	
it.A-Säure 20-40 mg/ Tier oral; 0 Tg.)	Meersch.	Schilddr.- Extr. (i.m.)	21 Tg.	HA/JF	neg.	Jansz et al. 1967 (80)
etinol 0,5-10mg/ Tier, s.c.; Tg.)	Maus	BGG (i.p.)	2 Tg.	AG-Elim.	pos.	Dresser 1968 (37)
etinol 2-50mg/ Tier, i.p.; Tg.)	Maus	BSA (i.p.)	1 h.	ABC	pos.	Spitznagel et al. 1970 (137)
it.A. 10.000 I.E./ Tier, oral; Tg.)	Maus	131J-BGG (i.v.)	5 Tg.	AG-Elim.	k.E.	Stark 1970 (142)
it.A. 75.000 I.E./ Tier, n.d.; Tg.)	Huhn	HSA (n.d.)	5 Tg.	ABC	k.E.	Steinberg 1970 (143)

Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung

Vitamin A- Zufuhr *

Vitamin A- Zufuhr (Dosis;Appl.)	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Vit.A-Palmi- tat (250 I.E./ gKG, i.p.; 5 Tg.)	Maus	Erythro- z. Schf. (i.p.)	6 Tg. V-Beg.	HA	pos.	Jurin et al 1972 (84)
Vit.A (10.000 I.E./ Tier, oral; 3 Tg.)	Maus	HSA (i.v.)	4 Tg.	ABC	pos.	Stark 1972 (141)
Vit. A-Palmi- tat (4.000 - 10.000 I.E./ Tier, s.c.; 2 Tg.)	Maus	DNP-OVA* (s.c.)	2 Tg.	ABC	Pos.	Cohen et al 1973 (25)
Vit.A-Azetat Vit.A-Säure (30.000 I.E./ kg Futter, oral; 8 Wo.)	Huhn	HSA (i.p.)	4-8 Wo.	ABC	neg.	Herlyn et a 1975 (63)
Vit.A-Palmi- tat (30.000 - 60.000 I.E./ kg Futter, oral; 6 Wo.)	Huhn	E.coli (Luftsack)	3-6 Wo.	HA	pos.	Tengerdy et al. 1975 (15)

* 2,4 - Dinitrophenyl-OVA

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.2 Vitamin D

Die Verabreichung einer Vitamin D - Mangeldiät führt bis auf wenige Ausnahmen zu keiner Beeinträchtigung der Immunantwort (s. Tab. 2). Zusätzliche Vitamin D - Gaben wirkten sich sogar immundepressiv aus (133).

Im Einklang mit diesen Befunden stehen die Ergebnisse aus Untersuchungen an Ratten, Kaninchen (174) und Mäusen (26), die auf keinen Einfluß von Vitamin D auf die Phagozytoserate des Blutes schließen lassen.

Einen weiteren Hinweis für die Unabhängigkeit der Abwehrmechanismen vom Vitamin D - Angebot in der Diät ergaben Untersuchungen an rachitischen Ratten, bei denen neben unverändertem Serumkomplementgehalt keine Beeinträchtigung der Lymphozytenaktivität des Blutes (56) oder Knochenmarkes (75) beobachtet wurde.

Tabelle 2

Einfluß von Vitamin D auf die Antikörperbildung *

Vitamin D-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
	Ratte	S.typhi (n.d.)	n.d.	HA	neg.	Blackberg 1927 (18)
	Kaninchen	S.typhi (i.v.) Erythrozo. Msch. (i.v.)	A.klin. M-Sympt. 4-6 Wo.	HA HA	k.E. k.E.	Greene 1933 (56)
	Ratte	S.Danysz (i.p.)	A.klin. M-Sympt.	HA	k.E.	Natvig 1941 (114)
	Ratte	Erythrozo. (i.p.)	4 Wo.	HA	k.E.	Ludovici et al. 1951 (98)
	Ratte	Diphth.-Toxoid (i.p.)	2 Wo.	HA	neg.	Pruzansky et al. 1955 (121)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin D auf die Antikörperbildung *

Vitamin D-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V.-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
Vitamin D-Zufuhr Dosis; Appl.	Maus	Influenza-V. Schw. (i.n.)	4 Wo.	HAH	k.E.	Underdahl et al. 1956 (162)
	Ratte	Tetanus-Toxoid (s.c.)	10 Wo.	PR	k.E.	Nalder et al. 1972 (113)
9.000 - 20.000 I.E./Tier, oral; 27 Tg.	Kaninchen	Erythrozyt. Schf. (i.v.)	V-Beg.	HR	k.E.	Freund et al. 1932 (44)
n.d.	Maus	Erythrozyt. Schf. (n.d.)	n.d.	HA	neg.	Schneider et al. 1957 (133)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.3 Vitamin E

Ein Vitamin E - Mangel hat allem Anschein nach keine Beeinträchtigung der immunologischen Funktionen zur Folge. Demgegenüber wird dem Vitamin, im Überschuß verabreicht, nahezu einhellig eine stimulierende Wirkung auf die Antikörperbildung zugeschrieben (s.Tab.3). Vitamin E scheint vor allem die IgG-, weniger die IgM - Produktion zu stimulieren (153).

Im Einklang mit diesen Befunden lief bei Mäusen nach Vitamin E - Zufuhr die Phagozytose von Kohlepartikeln aus dem zirkulierenden Blut beschleunigt ab (60).

Vor allem die umfangreichen Studien von Tengerdy und Mitarbeitern (153) können zur Klärung der Ursachen für die immunologische Wirksamkeit von Vitamin E beitragen: Die unter Vitamin E - Einfluß beobachtete Zunahme des Milzgewichtes deutet auf eine Stimulierung der Proliferation lymphoider Zellen hin; gleichzeitig wurde eine Akkumulierung des Vitamins in diesem Organ nachgewiesen. Die Autoren nehmen an, daß die immunologische Wirksamkeit von Vitamin E weniger auf eine Beeinflussung der Antikörpersynthese- oder Sekretion, sondern eher auf eine Stimulierung der Proliferation antikörperproduzierender Zellen zurückzuführen ist. Diese Annahme wird durch die Beobachtung einer deutlichen Vermehrung Plaques-bildender Zellen in der Milz unter Vitamin E - Einfluß bestätigt (151).

Der positive Einfluß des Vitamin E auf die Immunantwort läßt sich nur teilweise auf seine Antioxidanswirkung zurückführen: In Fütterungsversuchen an Mäusen mit einer Vitamin E - armen Diät konnte das Antioxidans DPPD (N,N-diphenyl-phenylene diamine), welches in Dosierungen verabreicht wurde, die das Auftreten von Vitamin E - Mangelsymptomen zu verhindern vermochten, das Vitamin E bezüglich seiner immunitätssteigernden Wirkung nur in geringem Ausmaß ersetzen (153).

Die immunologische Wirksamkeit von Vitamin E wird auf eine gesteigerte Ubichinon-Synthese zurückgeführt, da insbesondere das Coenzym Q nachweislich die Phagozytoseaktivität des RES steigert (60).

Tabelle 3

Einfluß von Vitamin E auf die Antikörperbildung *

Vitamin E-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
Vitamin E-Zufuhr (Dosis; Appl.)	Ratte	S.typhi (n.d.)	n.d.	HA	neg.	Blackberg 1928 (1)
	Huhn	γ-Globulin Schw. (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (1)
	Maus	Influenza-V.Schw. (i.n.)	4 Wo.	HAH	k.E.	Underdahl et al. 1956 (1)
	Nerz	S.pullorum (n.d.)	8 Wo.	n.d.	k.E.	Stowe et al. 1964 (1)
Tocopherol-acetat (10 mg/kg KG, n.d.)	Kaninchen	S.typhi (i.v.)	n.d.	HA	pos.	Tripodo et al. 1945 (1)
Vit. E (10-100 mg/kg KG, i.m.; n.d.)	Meerschw.	O-Streptolysin (i.m.)	n.d.	ASR	neg.	Butturini et al. 1955 (1)
n.d.	Ratte	S.typhi (n.d.)	n.d.	n.d.	pos.	Solarino et al. 1957 (1)
n.d.	Ratte	Erythrozo. Schf. (n.d.)	n.d.	n.d.	pos.	
DL-α-Tocopherolacetat (120 mg/kg Futter, oral; 30 Tg.)	Huhn	Erythrozo. Schf. (n.d.)	7-31 Tg.	HA	pos.	Tengerdy et al. 1972 (1)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin E auf die Antikörperbildung *

Vitamin E-Zufuhr (Dosis; Appl.)	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
DL- α -Tocopherolacetat (60-180mg/kg Futter, oral; 30 Tg.)	Maus	Erythro- schf. (i.v.)	30 Tg.	HA	pos.	Tengerdy et al. 1973 (153)
(60-180mg/kg Futter, oral; 5 Wo.)	Maus	Tetanus- Toxoid (i.p.)	5 Wo.	HA	pos.	
DL- α -Tocopherolacetat (150-300mg/ kg Futter, oral; 6 Wo.)	Huhn	E.coli (Luftsack)	3-6Wo.	HA	pos.	Tengerdy et al. 1975 (152)

2.1.4 B - Vitamine

Die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über den Einfluß der B-Vitamine auf die Immunantwort sind in den Tabellen 4 - 11 zusammengefaßt.

Die Mehrzahl der Untersuchungen wurde nach Induktion eines Vitamin-Mangels durchgeführt; hier wird insbesondere den Vitaminen Pyridoxin, Pantothersäure und Folsäure eine bedeutende Rolle bei der Immunitätsausbildung zugesprochen, während Thiamin, Riboflavin, Nikotinsäure, Biotin und Vitamin B₁₂ in dieser Hinsicht unterschiedlich beurteilt werden.

Die spärlichen Untersuchungen, die sich mit der Abhängigkeit der Immunglobulinbildung von zusätzlichen Gaben der B-Vitamine befassen, führten bei verschiedenen Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen.

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.4.1 Thiamin

Ungeachtet der ausgeprägten Körpergewichtsdepression (11, 13, 74, 143, 169) der Thymus- und Lymphknotenatrophie (148) sowie Leuko- und Lymphopenie (46), die die Verabreichung einer Thiamin-Mangeldiät zur Folge hatte, konnte in der Mehrzahl der Untersuchungen keine Beeinträchtigung der Antikörperbildungskapazität festgestellt werden. (s. Tab.4).

Lymphozyten sind bekanntlich Vorläufer der antikörperbildenden Plasmazellen. Eine positive Korrelation zwischen Lymphozytenzahl und Antikörperbildungskapazität eines Organismus ist jedoch nicht ausnahmslos gegeben (13, 77, 163).

In Übereinstimmung mit den immunologischen Befunden zeigte auch die Aktivität zellulärer (114, 174) und humoraler (13, 114, 134, 184) Resistenzfaktoren keine Abhängigkeit vom Thiamin-Angebot in der Diät.

Tabelle 4

Einfluß eines Thiamin-Mangels auf die Antikörperbildung *

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Ratte Kaninchen Tauben	S.typhi (i.p./ i.v.)	7 Tg.	HA	k.E.	Werkman 1923 (174)
Ratte	S.typhi (n.d.)	n.d.	HA	neg.	Blackberg 1927 (13)
Ratte	S.Denysz (i.p.)	A.klin. M-Sympt.	HA	k.E.	Natvig 1941 (114)
Mensch	B.tularensis (i.m.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	Morey et al. 1942 (111)
Maus	W.E.E.-V. (i.p.)	14-17 Tg.	NT	k.E.	Ruchman 1946 (74)
Ratte	Erythrocyt. Schf. (i.p.)	5 Wo.	HA	k.E.	Stoerk et al. 1947 (148)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 4 (Fortsetzung)

Einfluß eines Thiamin-Mangels auf die Antikörperbildung *

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Ratte	Erythro- z. Msch. (i.p.)	2-3 Wo.	HA	neg.	Carter et al. 1948 (23)
Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	6 Wo.	KBR	neg.	Wertman et al. 1951 (178)
Huhn	γ -Globulin Schw. (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (104)
Ratte	OVA (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	
Ratte	Diphth.- Toxoid (i.p.)	2 Wo.	HA	k.E.	Pruzansky et al. 1955 (121)
Ratte	Coryne- bact. Kutscheri (i.p.)	4 Wo.	HA	k.E.	Zucker et al. 1956 (185)
Ratte	Influenza- V. (i.p.)	11 Tg.	HAH	k.E.	Axelrod et al. 1960 (11)

2.1.4.2 Riboflavin

Die Verabreichung einer Riboflavin-Mangeldiät führte in der Mehrzahl der Untersuchungen zu einer Beeinträchtigung der Immunantwort; mit zusätzlichen Gaben des Vitamins an konventionell ernährte Ratten bzw. Hamster konnte ein steigernder bzw. kein Effekt erzielt werden.
(s.Tab.5)

In allen Riboflavin-Mangelstudien fiel eine deutliche Körpergewichtsdepression auf; die Antikörperbildung der Mangeltiere war auch gegen-

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

über "paired-fed" - Kontrollen beeinträchtigt (10, 57, 117, 135, 177).

Interessanterweise wurden in der Leber Riboflavin-depletierter Ratten, deren immunologische Aktivität beeinträchtigt war, relativ hohe Mengen dieses Vitamins gefunden. Dies läßt auf eine mangelhafte Mobilisierung des Riboflavin aus diesem Organ trotz erhöhten Bedarfs des Organismus schließen (112).

Ebenso wie die Immunreaktion wurde auch die Phagozytoserate bei Ratten durch einen Vitamin B₂ - Mangel herabgesetzt. Gleichzeitig zeigten diese Tiere eine ausgeprägte Leukopenie des Blutes (27,55). Die Komplementaktivität hingegen blieb unbeeinflusst (13, 112, 121).

Tabelle 5

Einfluß von Riboflavin auf die Antikörperbildung*

Riboflavin-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.-Ztp. n. V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
	Mensch	B.tularensis (i.m.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	Morey et al. 1942 (1)
	Maus	W.E.E.-V. (i.p.)	14-17 Tg.	NT	k.E.	Ruchman 1946 (7)
	Ratte	Erythrozyt. Schf. (i.p.)	5 Wo.	HA	k.E.	Stoerk et al. 1947 (14)
	Ratte	Erythrozyt. Mech. (i.p.)	7 Wo.	HA	neg.	Axelrod et al. 1947 (16)
	Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	A.klin. M-Sympt.	KBR	neg.	Wertman et al. 1952 (17)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 5 (Fortsetzung)

Einfluß von Riboflavin auf die Antikörperbildung *

Riboflavin- angel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.-Ztp. n. V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
	Huhn	Urease (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (106)
	Ratte	OVA (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (104)
	Ratte	Diphth.- Toxoid (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Pruzansky 1955 (121)
	Hamster	L.pomona (i.p.)	6-8 Wo.	HA	k.E.	Smith et al. 1961 (135)
	Schwein	S.pullo- rum (i.p.)	5 Wo.	HA	neg.	Harmon et al. 1963 (57)
	Schwein	Erythro- z. Msch. (i.p.)	6 Wo.	HA	neg.	
	Huhn	S.pullo- rum (i.v.)	4 Wo.	HA	neg.	Panda et al. 1963 (117)
	Ratte	L.ictero- haemorrh. (i.p.)	24 Tg.	HA	neg.	Murányi 1964 (112)
Riboflavin- fuhr (osis; Appl.)						
n.d.	Ratte	S.typhi (n.d.) Erythro- z. Schf. (n.d.)	n.d. n.d.	n.d. n.d.	pos. pos.	Solarino 1957 (140)
20-100 mg/ g Futter (oral; n.d.)	Hamster	L.pomona	n.d.	HA	k.E.	Smith et al. 1961 (135)

*Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.4.3 Pyridoxin

Die negativen Auswirkungen eines Pyridoxin-Mangels auf die Antikörperbildung wurden erstmals 1946 beschrieben (147). Die Ergebnisse einer Vielzahl späterer Arbeiten bestätigten diesen Befund (s.Tab.6).

Die zusätzliche Applikation des Vitamins an konventionell ernährte Ratten zeigte hingegen keinen Effekt (91); die Phagozytoserate im Blut dieser Tiere war jedoch erhöht (92).

Neben dem immundepressiven Effekt hatte ein Pyridoxin-Mangel eine Verminderung der Phagozytoseaktivität des RES (55, 141), eine Reduktion Plaques-bildender Zellen in der Milz (88), eine Atrophie lymphatischer Gewebe (1, 46, 93, 146, 148, 170) und eine Abnahme des Serumkomplementgehaltes (21) zur Folge.

Demnach spielt das Pyridoxin eine entscheidende Rolle beim Ablauf von Immunitäts- und Resistenzmechanismen. Nach heutiger Ansicht ist dieser Effekt in der Bedeutung des Vitamins als Coenzym im Nucleinsäuren-, Aminosäuren- und Proteinstoffwechsel begründet (5, 6, 57, 141). So konnte die Beeinträchtigung der Immunglobulinsynthese unter Vitamin B₆-Mangel in direkten Zusammenhang mit einer gestörten Tryptophan- und Tyrosinverwertung gebracht werden (1, 21, 57).

Abschließend sei erwähnt, daß das Pyridoxin auch zellvermittelte Immunreaktionen zu steuern vermag (5, 6, 7, 12, 14, 30, 141).

Tabelle 6

Einfluß von Pyridoxin auf die Antikörperbildung *

Pyridoxin-Mangel

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.-Ztp. n.V.-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Ratte	Erythro- Schf. (i.p.)	5 Wo.	HA	neg.	Stoerk 1946 (147)
Ratte	Erythro- Msch. (i.p.)	7 Wo.	HA	neg.	Axelrod 1947 (10)
Ratte	Erythro- Schf. (i.p.)	42-43 Tg.	HA	neg.	Agnew et al. 1949 (1)
Ratte	S.typhi (i.p.)	43 Tg.	HA	neg.	
Maus	PVM-V. (i.n.)	V.-Beg.	NT	k.E.	Leftwich et al. 1949 (93)
Ratte	Erythro- Schf. (i.v.;i.p.)	5 Wo.	HR	neg.	Büsing 1950 (21)
Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	6 Wo.	KBR	neg.	Wertman et al. 1951 (176)
Huhn	Urease (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	Mc Coy et al. 1954 (106)
Huhn	γ-Globulin Schw. (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	Mc Coy et al. 1954 (104)
Ratte	OVA (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 6 (Fortsetzung)

Einfluß von Pyridoxin auf die Antikörperbildung *

Pyridoxin-Mangel

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.-Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
Ratte	Diphth.- Toxoid (i.p.)	6 Wo.	HA	neg.	Pruzansky 1955 (121)
Mensch	S.typhi (n.d.)	15 Wo.	n.d.	k.E.	Wayne et al. 1958 (170)
Mensch	A.u.B.- Blutgr. Subst. (n.d.)	15 Wo.	n.d.	k.E.	
Ratte	Influenza- V. (i.p.)	4 Wo.	HAH	neg.	Axelrod et al. 1960 (11)
Meerschw.	Diphth.- Toxoid (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Axelrod et al. 1961 (12)
Mensch	Tetanus- Toxoid (n.d.)	5-10 Wo.	HA	neg.	Hodges et al. 1961 (69)
Mensch	S.typhi (n.d.)	5-10 Wo.	HA	neg.	
Schwein	S.pullorum (i.p.)	5 Wo.	HA	neg.	Harmon et al. 1963 (57)
Schwein	Erythrozo. Msch. (i.p.)	5 Wo.	HA	neg.	
Ratte	Erythrozo. Schf. (i.v.)	n.d.	HR	neg.	Kumar et al. 1968 (88)
Ratte	Erythrozo. Schf. (i.v.)	6-10 Wo.	HA	k.E.	Davis (1974 (30)
Ratte	E.coli (i.v.)	6-10 Wo.	HA	k.E.	

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 6 (Fortsetzung)

Einfluß von Pyridoxin auf die Antikörperbildung *

Pyridoxinzufuhr

Pyridoxin- zufuhr Dosis;Appl.)	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.-Ztp. n. V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
0,8 mg/kgKG i.c.; 30 Tg.)	Ratte	S.typhi (i.p.)	15 Tg.	HA	k.E.	Lamana et al. 1955 (91)

2.1.4.4 Pantothersäure

Nach Verabreichung einer pantothersäurearmen Diät war die Immunglobulinbildung gegenüber einer Vielzahl unterschiedlicher Antigene beeinträchtigt. Demgegenüber führte eine parenterale Pantothersäureapplikation bei konventionell ernährten Ratten und Kaninchen zu keinen einheitlichen Ergebnissen (s.Tab.7).

Während die RES-abhängige Antigen (Schaf-Erythrozyten, Humanalbumin) -metabolisierung vom Pantothersäureangebot in der Diät unabhängig zu sein scheint, nimmt die Anzahl (5) und Antikörperbildungskapazität (6,7) immunkompetenter Zellen nach Induktion eines Pantothersäuremangels ab.

Diese Befunde werden durch die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen unterstützt, die auf eine verminderte intranukleäre DNS-Konzentration in der Milz (6, 7, 13) sowie eine Blockade der Proteinfreisetzung aus dem endoplasmatischen Retikulum (5) nach Pantothersäureentzug hinweisen.

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 7

Einfluß von Pantothensäure auf die Antikörperbildung

Pantothensäure-Mangel*

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
Ratte	Erythrozo. Schf. (i.p.)	5 Wo.	HA	k.E.	Stoerk 1947 (148)
Ratte	Erythrozo. Msch. (i.p.)	7 Wo.	HA	neg.	Axelrod et al. 1947 (10)
Ratte	Erythrozo. Msch. (i.p.)	3-7 Wo.	HA	neg.	Ludovici et al. 1949 (100)
Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	6 Wo.	KBR	neg.	Wertman et al. 1951 (178)
Ratte	S.typhi (i.p.)	4-5 Wo.	HA	neg.	Giunchi et al. 1953 (50)
	B.melitensis (i.p.)	4-5 Wo.	HA	neg.	
	Erythrozo. Msch. (i.p.)	4-5 Wo.	HA	neg.	
Huhn	Urease (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	Mc Coy et al. 1954 (106)
Huhn	γ-Globulin Schw. (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	Mc Coy et al. 1954 (104)
Ratte	OVA	n.d.	n.d.	neg.	
Ratte	Diphth.- Toxoid (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Pruzansky et al. 1955 (121)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 7 (Fortsetzung)

Einfluß von Pantothensäure auf die Antikörperbildung *

Pantothensäure-Mangel.

Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
Ratte	Corynebact. kutscheri (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Zucker et al. 1956 (185)
Ratte	Diphth.- Toxoid (i.p.)	4-7 Wo.	HA	neg.	Axelrod 1958 (8)
Ratte	Influenza-V. (i.p.)	5 Wo.	HAH	neg.	Axelrod et al. 1960 (11)
Mensch	Tetanus- Toxoid (n.d.)	5-10 Wo.	n.d.	neg.	Hodges et al. 1961 (69)
Mensch	S.typhi (n.d.)	5-10 Wo.	n.d.	neg.	
Mensch	Asian Influen- za-V. (n.d.)	7-9 Wo.	HAH/ KBR	k.E.	Hodges et al. 1962 (68)
	S.typhi (n.d.)	7-9 Wo.	HA	k.E.	
	Tetanus- Toxoid (n.d.)	7-9 Wo.	NT	neg.	
Schwein	S.pullorum (i.p.)	5 Wo.	HA	neg.	Harmon et al. 1963 (57)
Schwein	Erythrozo. Msch. (i.p.)	6 Wo.	HA	neg.	
Huhn	S.pullorum (i.v.)	4 Wo.	HA	neg.	Panda et al. 1963 (117)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 7 (Fortsetzung)

Einfluß von Pantothensäure auf die Antikörperbildung *

Pantothensäure-Zufuhr

Pantothen- säure-Zu- fuhr (Dosis;Appl.)	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
Ca-Pantothenat (100 g/Tier, i.p.; 5 Wo.)	Ratte	Erythro- z. Msch. (i.p.)	5 Wo.	HA	pos.	Ludovici et al. 1951 (99)
Panthenol (86 g/Tier, i.p.; 5 Wo.)	Ratte	Erythro- z. Msch. (i.p.)	5 Wo.	HA	pos.	
Ca-Pantothenat (3 mg/kg KG, s.c.; 30 Tg.)	Ratte	S.typhi (i.p.)	15 Tg.	HA	k.E.	Lamana et al. 1955 (91)
n.d.	Kaninchen	Myxom-V. (s.c.)	V-Beg.	Papier- elektro- phorese	pos.	Meyer et al. 1955 (109)
Ca-Pantothenat (10mg/Tier, n.d.; 12 Tg.)	Kaninchen	Staph.- Toxoid (n.d.)	n.d.	NT	k.E.	Richon 1956 (125)

2.1.4.5 Folsäure

Ein Folsäureentzug in der Diät hatte im Unterschied zu anderen B-Vitaminen, vor allem dem Thiamin (s. 2.1.4.1) eine geringere Körpergewichtsdepression zur Folge (5, 13).

Neben Pyridoxin und Pantothensäure wird die Folsäure von Axelrod (5, 8, 9, 13, 98) in die Gruppe derjenigen Vitamine einbezogen, unter deren Mangel eine ausgeprägte Beeinträchtigung der humoralen Immunantwort auftritt (s.Tab.8).

Die Folsäure übt einen direkten Einfluß auf die Vermehrung und Transformation der Lymphozyten aus (53, 94, 98, 129, 132, 180).

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Daraus erklärt sich, daß auch zellvermittelte Immunreaktionen nach Applikation einer folsäurearmen Diät beeinträchtigt waren (53, 180). Nach parenteraler Zufuhr hingegen zeigte das Vitamin keinen Einfluß auf die Bildung humoraler Antikörper (91).

Den Hintergrund für die bedeutende Rolle der Folsäure bei der Antikörperproduktion dürfte - analog dem Wirkungsmechanismus von Pyridoxin und Pantothersäure (s. 2.1.2.1.3 und 2.1.2.1.4) - der stimulierende Einfluß des Vitamins auf die Nucleinsäuren-Biosynthese bilden (45, 53, 129, 164, 180).

Tabelle 8

Einfluß von Folsäure auf die Antikörperbildung *

Folsäure- mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
	Affe	S.haemo- lyt. (i.n.)	18-26 Wo.	NT PR	k.E.	Saslaw et al. 1946 (132)
	Huhn	S.abortus (i.m.)	8-19 Tg.	HA	neg.	Little et al. 1950 (94)
		P.multocida (i.m.)	8-19 Tg.	HA	neg.	
		S.typhosa (i.m.)	8-19 Tg.	HA	neg.	
	Ratte	Erythrozyt. Misch. (i.p.)	9 Wo.	HA	neg.	Ludovici et al. 1951 (98)
	Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	A.klin. M-Sympt.	KBR	neg.	Wertman 1952 (177)
	Huhn	γ -Globulin Schw. (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (104)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 8 (Fortsetzung)

Einfluß von Folsäure auf die Antikörperbildung*

Folsäure-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
	Ratte	Diphth.-Toxoid (i.p.)	2 Wo.	HA	neg.	Pruzansky et al. 1955 (12)
	Maus	PABG-BSA*	A.klin. M.Sympt.	ABC	neg.	Rothenberg et al. 1973 (12)
	* p - Aminobenzoylglutamat - BSA					
Folsäure-Zufuhr Dosis; Appl.						
0,6 mg/kg KG s.c.; 30 Tg.	Ratte	S.typhi (i.p.)	15 Tg.	HA	k.E.	Lamana et al. 1955 (9)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.4.6 Vitamin B₁₂

Vitamin B₁₂-depletierte Ratten wiesen gegenüber Kontrolltieren i.d.R. eine verminderte Immunantwort auf (s.Tab.9).

Hitzig und Kenny (65) führen die immunologische Wirksamkeit des Vitamin B₁₂ auf seine Rolle als Coenzym im Nucleinsäurenstoffwechsel zurück. Bei Vitamin B₁₂-supplementierten Kaninchen konnte jedoch ungeachtet einer beschleunigten Stoffwechselaktivität und mesenchymalen Gewebsproliferation keine gegenüber der Norm veränderte Immunreaktion nachgewiesen werden (145).

Tabelle 9

Einfluß von Vitamin B₁₂ auf die Antikörperbildung *

tamin B ₁₂ - ngel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergeb- nis	Autor
	Ratte	Erythro- Msch. (i.p.)	4 Wo.	HA	k.E.	Ludovici et al. 1951 (98)
	Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	A.klin. M.Sympt.	KBR	neg.	Wertman et al. 1952 (175)
	Ratte	Erythro- Schf. (n.d.)	V-Beg.	HA	neg.	Gebhardt et al. 1974 (48)
tamin B ₁₂ - fuhr sis; Appl.						
g/Tier c.; 11 Tg.	Kaninchen	S.paratyphi (i.v.)	8 Tg.	HA	k.E.	Sterzl 1959 (145)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.4.7 Nikotinsäure, Biotin

Nikotinsäure

Die Rolle der Nikotinsäure bei der Immunitätsausbildung konnte nach den Ergebnissen der wenigen bisherigen Untersuchungen noch nicht eindeutig geklärt werden (s. Tab. 10).

Nach Verabreichung einer nikotinsäurearmen Diät (9, 13, 98), die darüberhinaus nur geringe Mengen des Nikotinsäure-Vorläufers Tryptophan enthielt, war die Immunglobulinbildungskapazität der Versuchstiere deutlich verringert.

Eine Anhebung der Antikörpertiter konnte allerdings lediglich durch Tryptophan-, nicht hingegen durch Nikotinsäure-Zufuhr erzielt werden (98). Dem Tryptophan scheint eine entscheidende Rolle beim Ablauf von Immunitätsmechanismen zuzukommen (13, 98).

Biotin

Ähnlich der oben genannten Nikotinsäure führten auch die Untersuchungen über einen Einfluß des Vitamins Biotin auf die Immunitätsausbildung zu uneinheitlichen Resultaten (s.Tab.11).

Das Komplement als humoraler Resistenzfaktor zeigte unter Biotinmangel - ebenso wie auch unter Nikotinsäure-Tryptophanmangel - keine Veränderung seiner Aktivität (13, 179).

Beiden hier genannten Vitaminen gemeinsam ist, daß bei ihrer parenteralen Zufuhr an konventionell ernährte Ratten niedrige Dosierungen einen günstigeren immunologischen Effekt zeigen als Mengen, die den Bedarf weit übersteigen (140).

Abgesehen von ihrer bekannten allgemeinen Funktion im intermediären Stoffwechsel sind Anhaltspunkte für spezielle Wirkungsmechanismen dieser beiden Vitamine, die in direktem Zusammenhang mit immunologischen Prozessen gesehen werden könnten, in der Literatur bislang nicht diskutiert worden.

Tabelle 10

Einfluß von Nikotinsäure auf die Antikörperbildung *

Nikotin-säure-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
	Mensch	B.tularensis (i.m.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	Morey et al. 1942 (1)
	Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	6 Wo.	KBR	k.E.	Wertman et al. 1951 (1)
	Huhn	Urease (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (1)
Nikotin-säure-Zufuhr Dosis; Appl.						
niedrige Dosis;	Ratte	S.typhi Erythro. Schf. (n.d.)	n.d.	n.d.	pos.	Solarino 1957 (1)
hohe Dosis;	Ratte	S.typhi Erythro. Schf. (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	Solarino 1957 (1)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 11

Einfluß von Biotin auf die Antikörperbildung *

Biotin-Mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
	Ratte	Erythrozyt. Msch. (i.p.)	6 Wo.	HA	neg.	Carter et al. 1948 (23)
	Huhn	Urease (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (106)
	Huhn	γ-Globulin-Schw. (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Mc Coy et al. 1954 (104)
	Ratte	Diphth.-Toxoid (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Pruzansky et al. 1955 (121)
	Ratte	Diphth.-Toxoid (i.p.)	4 Wo.	HA	neg.	Axelrod 1958 (8)
Biotin-Zufuhr Dosis; Appl.						
niedrige Dosis	Ratte	S.typhi Erythrozyt. Schf. (n.d.)	n.d.	n.d.	pos.	Solarino 1957 (140)
hohe Dosis	Ratte	S.typhi Erythrozyt. Schf. (n.d.)	n.d.	n.d.	neg.	

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.5 Vitamin C

Unbestritten ist die überragende Bedeutung des Vitamin C für das allgemeine Abwehrsystem, da es für die Funktionstüchtigkeit von Haut, Schleimhaut und Kapillarmembranen sorgt (86, 103). Dieser Effekt wird mit einer "Aktivierung" von Corticosteroidhormonen in Verbindung gebracht (19, 20, 165).

Die humorale Immunreaktion wurde durch einen Vitamin C - Mangel nicht beeinträchtigt. Zusätzliche Vitamin C - Verabreichung an konventionell ernährte Labortiere führte hingegen des öfteren zu einer Stimulierung der Antikörpersynthese (s. Tab. 12).

Nach einer exzessiven Vitamin C-Zufuhr über einen längeren Zeitraum waren neben der Antikörperbildungskapazität (22) die Phagozytoseaktivität peripherer Makrophagen sowie der Properdin- und Lysozymgehalt des Serums (119) deutlich vermindert.

Untersuchungen über den Einfluß des Vitamins auf zelluläre und humorale Resistenzfaktoren - die Phagozytoseaktivität der Makrophagen (19, 43, 55, 103, 114, 116), die Serumbakterizidie (19, 21, 85, 114, 119) sowie antitoxische Serumeigenschaften (19, 83) - führten zu widersprüchlichen Ergebnissen.

Auch sind keine Anhaltspunkte für eine eventuelle Beteiligung des Vitamins am Ablauf zellvermittelter Immunreaktionen gegeben:

Die bei Vitamin C - Mangel beobachtete verminderte Hautreaktion vom Arthus-Typ konnte auch bei nichtsensibilisierten Meerschweinchen allein durch Applikation von Histamin erzielt werden (87). Des weiteren zeigte bei dieser Spezies die mitotische Reaktivität der Lymphozyten gegenüber Phytohämagglutinin keine Abweichungen von der Norm (187).

Tabelle 12

Einfluß von Vitamin C auf die Antikörperbildung *

Vitamin C- mangel	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best. Verf.	Ergeb- nis	Autor
	Ratte	S.typhi (s.c.)	A.klin. M-Sympt.	HA/ KBR	k.E.	Zilva 1919 (184)
	Meerschw.	S.typhi (s.c.)	A.klin. M-Sympt.	HA/ KBR	k.E.	
	Meerschw.	P.tularen- sis (s.c.)	14 Tg.	HA	k.E.	Natvig 1941 (114)
	Mensch	Influenza- V. (Kontakt)	n.d.	NT	k.E.	Feller et al. 1942 (43)
	Meerschw.	Diphth.- Toxoid (s.c.)	35-63 Tg.	NT	neg.	Long 1950 (95)
	Meerschw.	Diphth.- Toxoid (i.p.)	1 Wo.	HA	k.E.	Kumar et al. 1969 (87)
	Mensch	S.typhi (n.d.)	A.klin. M-Sympt.	n.d.	k.E.	Hodges 1971 (67)
Ascorbin- säure-Zu- fuhr mangel; Appl.						
5-400 mg/ Tier, i.v.	Kaninchen	Pferde- serum (i.v.)	V-Beg.	PR	pos.	Jusatz 1936 (85)
0-100 mg/ Tier, i.p. -19 Tg.		Pferde- serum (s.c.)	V-Beg.	PR	k.E.	Hochwald et al. 1937 (66)
0-100 mg/ Tier, i.p. -19 Tg.	Meerschw.	Human- serum (s.c.)	V-Beg.	PR	k.E.	
0-100 mg/ Tier, i.p. -19 Tg.		Diphth.- Toxoid (s.c.)	V-Beg.	NT	k.E.	

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 12 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin C auf die Antikörperbildung *

Ascorbin- säure-Zu- fuhr Dosis;Appl.	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best. Verf.	Ergeb- nis	Autor
25-100 mg/ Tier, i.v.; i.p.; s.c.;	Kaninchen	Pferde- serum (i.v./i.p. s.c.)	V-Beg.	PR	pos.	Madison et al. 1937 (10)
5-10 mg/ Tier, s.c. 40 Tg.	Meerschw.	Pferde- serum (i.p.)	21 Tg.	PR	pos.	Raffel et al. 1938 (12)
100mg/kgKG i.m.; 9 Tg.	Meerschw.	O-Strepto- lysin (i.m.)	V-Beg.	NT	neg.	Butturini et al. 1955 (2)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

2.1.6 Vitamin - Kombinationen

Der Vollständigkeit halber sind in Tabelle 13 die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen, in denen die Immunreaktion nach Entzug oder zusätzlicher Applikation des Vitamin B - bzw. ADE - Komplexes überprüft wurde, aufgeführt.

Obwohl Pyridoxin, Pantothensäure bzw. Folsäure jeweils eine bedeutende Rolle bei der Immunabwehr spielen (s. 2.1.4.3/ 2.1.4.4/ 2.1.4.5), wurde die Antikörperbildungskapazität durch gleichzeitigen Entzug dieser Vitamine i.d.R. nicht beeinträchtigt (74, 126, 178, 181); zu demselben Ergebnis führten immunologische Untersuchungen, die bei Mäusen nach Induktion eines Vitamin A-D-E - Mangels durchgeführt wurden (162)

Nach gleichzeitiger Supplementierung von Vitamin E und Vitamin A wurde eine verminderte Immunantwort im Vergleich zu dem Einzeleffekt des jeweiligen Vitamins gemessen; dies läßt auf einen Antagonismus hinsichtlich der immunologischen Wirksamkeit der beiden Vitamine schließen, dessen Zustandekommen jedoch noch ungeklärt ist (152, 162).

Tabelle 13

Einfluß von Vitamin-Komplexen auf die Antikörperbildung *

Vitamin-Komplex	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.-Verf.	Ergebnis	Autor
Vitamin-Komplex	Mensch	Staph. aureus (n.d.)	A.klin. M-Sympt.	n.d.	k.E.	Riddle et al. 1940 (126)
		Strep. viridans (n.d.)	A.klin. M-Sympt.	n.d.	k.E.	
		Neisseria intracell. (n.d.)	A.klin. M-Sympt.	n.d.	k.E.	
	Mensch	B.tularense (i.m.)	A.klin. M-Sympt.	HA	neg.	Morey et al. 1942 (111)
	Affe	Influenza-V. (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	Wilson et al. 1943 (181)
	Affe	Strep.hämol. (n.d.)	n.d.	n.d.	k.E.	
	Maus	WEE-V. (i.p.)	14-17 Tg.	Neutr./HA	k.E.	Ruchman 1946 (74)
Vitamin-ADE-Komplex	Ratte	Rickettsia typhi (i.p.)	6 Wo.	KBR	k.E.	Wertman et al. 1951 (178)
	Maus	Influenza-V. Schw. (i.n.)	4 Wo.	HAH	k.E.	Underdahl et al. 1956 (162)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Tabelle 13 (Fortsetzung)

Einfluß von Vitamin-Komplexen auf die Antikörperbildung *

Vitamin-Komplex-Zufuhr Dosis; Appl.	Spezies	Antigen (Appl.)	Imm.Ztp. n.V-Beg.	AK-Best.- Verf.	Ergebnis	Autor
Vitamin B-Komplex (n.d.)	Kaninchen	Diphth.- Toxoid (n.d.)	n.d.	Neutr.	pos.	Manolova 1967 (102)
Vitamin AE-Komplex (150-300mg Vit. E. 30.000-60.000 I.E. Vit.A/kg Futter; oral; 6 Wo.)	Huhn	E.coli (Luftsack)	3-6Wo.	HA	pos.	Tengerdy et al. 1975 (152)

* Abkürzungen siehe Seite 4 und 5

Die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über die Bedeutung von Cholin für die Resistenz- und Immunitätsausbildung wurden in der Einleitung (s.1.) ausführlich diskutiert.

2.2 Besprechung der Literaturbefunde unter besonderer Berücksichtigung der Variablen in der Versuchsanordnung

Wie aus den voranstehenden Tabellen hervorgeht, weichen die Ergebnisse verschiedener Autoren bei gleicher Fragestellung häufig voneinander ab. Im folgenden soll daher auf einige Variablen in der Versuchsanordnung eingegangen werden, die bei der Prüfung des Einflusses von Vitaminen auf den Immunstatus die Ergebnisse entscheidend beeinflussen können.

2.2.1 Tiermaterial

Die Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen verschiedener Untersuchungen, die sich in ihrer Anlage - mit Ausnahme des verwandten Tiermaterials - nicht wesentlich unterscheiden, sind möglicherweise auf spezies-, stammes-, geschlechts- oder altersspezifische Unterschiede in der Antikörperbildungskapazität zurückzuführen.

2.2.1.1 Spezies

Bei der Überprüfung der Wirkung verschiedener Adjuvantien, unter anderem des Vitamin A, auf die Antikörperbildung beim Huhn, konnte bei dieser Spezies im Gegensatz zu anderen Tierarten in keinem Falle eine gesteigerte Immunantwort festgestellt werden. Die Autoren zogen die Möglichkeit in Betracht, daß sich beim Huhn die Umwandlung von X-Zellen (antigenempfindlich) in Z-Zellen (antikörperbildend) durch Adjuvantien nicht beeinflussen läßt (143).

Unter Verwendung gleicher Vitamin C-Dosierungen und desselben Antigens hatte das Vitamin bei Kaninchen einen steigernden, bei Meerschweinchen hingegen keinen Einfluß auf die Antikörperbildung. Diese Diskrepanz mag allerdings eher durch artspezifische Unterschiede in der Eigensynthese des Vitamins als durch unterschiedliche Reaktivität des Immunsystems beider Tierarten bedingt sein (66, 85, 101).

2.2.1.2 Stamm

In Untersuchungen über den Einfluß eines Thiamin-, Riboflavin-, oder Pantothensäuremangels auf die Immunrespons bei Sherman-Ratten (148) und Sprague-Dawley-Ratten (23) wurden unter sonst analogen Versuchs-kriterien widersprüchliche Ergebnisse erzielt, die möglicherweise auf eine unterschiedliche immunologische Reaktivität der beiden Ratten-stämme zurückzuführen sind.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, daß die Antikörperbildung von Mäusen durch Östrogene stammesspezifisch unterschiedlich beeinflusst wurde (144).

2.2.1.3 Geschlecht

Bei weiblichen Individuen wird im Vergleich zum männlichen Geschlecht generell eine ausgeprägtere Immunrespons beobachtet (2, 39, 64, 81, 122, 124, 130, 154, 167). Eine geschlechtsspezifisch unterschiedliche Beein-flussung der Antikörperbildung durch Vitamine ist daher in Betracht zu ziehen. Diesbezügliche Untersuchungsergebnisse liegen jedoch bislang nicht vor.

2.2.1.4 Alter

Im Unterschied zu 8 Wochen alten Küken zeigte die Immunantwort 4 Wochen alter Küken keine Abhängigkeit vom Vitamin A - Angebot in der Diät. Diese Diskrepanz wird auf den unterschiedlichen immunologischen Reifezustand der beiden Altersstufen zurückgeführt (63).

2.2.2 Vitaminversorgung

2.2.2.1 Mangeldiät

Die Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen verschiedener Autoren, die die Immunreaktion nach Entzug desselben Vitamins überprüften, sind nach Harmon und Mitarbeitern (57) möglicherweise auf die Ver-wendung unterschiedlicher Diäten, die sich durch ihren Reinheitsgrad

und damit Vitamingehalt unterscheiden, zurückzuführen. So wurden in Vitamin C - Mangelstudien an Meerschweinchen nach Fütterung einer Standard- (95) bzw. hochgereinigten synthetischen Diät (87) unterschiedliche Befunde erhoben.

2.2.2.2 Depletion

Stoerk (148) schrieb die Abweichung seiner Resultate von den Ergebnissen anderer Autoren (10) dem unterschiedlichen Ausmaß der Pantothensäure-Depletion zu.

Da während einer Vitamin-Mangel-Periode Futterverwertung und Körpergewichtsentwicklung der Versuchstiere beeinträchtigt sein können, erschwert sich der Nachweis einer spezifischen Vitaminwirkung. Daher sollten insbesondere in Untersuchungen mit ausgedehnten Vitamin-Mangel-Fütterungsperioden "paired-fed" - Kontrollen einbezogen werden.

Dieser Forderung wurde nicht von allen Autoren Rechnung getragen. Jedoch kamen Axelrod und Pruzansky (13) nach umfangreichen Literaturstudien zu dem Schluß, daß im allgemeinen keine Korrelation zwischen dem Einfluß eines Vitamin-Mangels auf Immunantwort und Wachstumsrate besteht.

2.2.2.3 Vitaminstatus

Vor zusätzlicher Vitamin-Applikation an konventionell ernährte Individuen sollte der Vitaminstatus des Organismus getestet werden, da eine Vitaminzufuhr häufig lediglich einen vorhandenen latenten Mangel ausgleicht; eine Stimulierung der Abwehrmechanismen ist jedoch meist erst durch Vitamindosierungen, die weit über den Bedarfswerten liegen, zu erzielen (55, 165).

2.2.2.4 Zeitpunkt

Von Bedeutung ist weiterhin, daß der Beginn der Vitaminzufuhr stets vor den Immunisierungszeitpunkt gelegt wird (84). Die Diskrepanz zwischen

den Ergebnissen verschiedener Untersuchungen über die Beeinflussung der Immunreaktion durch Vitamin C (66, 123) ist daher u.U. auf die zeitlich unterschiedliche Festlegung der Vitaminapplikation in Relation zum Immunisierungszeitpunkt zurückzuführen.

2.2.3 Antigenapplikation

Vitaminabhängige Unterschiede in der Antikörperbildung äußern sich i.d.R. deutlicher nach Verwendung schwacher Antigenstimuli als nach starkem antigenen Reiz.

2.2.3.1 Dosierung

So konnte der immundepressive Effekt eines Vitamin B - Komplex - Mangels lediglich nach der Immunisierung mit niedrigen Antigendosierungen, nicht hingegen nach Verwendung relativ hoher Mengen desselben Antigens (*Rickettsia typhi*) nachgewiesen werden (176, 177, 178). Des weiteren äußerte sich bei Mäusen der immunitätssteigernde Effekt des Vitamin A mit Zunahme des antigenen Reizes weniger deutlich (137).

In anderen Untersuchungen hingegen war keine Korrelation zwischen Antikörperbildungsvermögen im Vitaminmangelzustand und Antigendosierung gegeben (13, 175).

2.2.3.2 Immunogenität

Ebenso wie nach Verwendung hoher Antigendosierungen können nach Immunisierung mit stark immunogenen Antigenen vitaminabhängige Unterschiede in der Antikörperbildung u.U. nicht mehr erfaßt werden (137). Demgegenüber wurde die Immunantwort von Ratten, die mit Humanerythrozyten immunisiert worden waren, durch einen Riboflavin- bzw. Pantothensäureentzug in der Diät beeinträchtigt, während sich nach Immunisierung mit Schafererythrozyten, die im Vergleich zu Humanerythrozyten eine stärkere Immunogenität besitzen (13), kein Effekt zeigte (10, 148).

2.2.3.3 Booster

In Übereinstimmung mit den oben genannten Befunden treten vitamin-abhängige Unterschiede in der Immunglobulinbildung nach der Booster-immunisierung, die im allgemeinen eine stärkere Immunantwort hervorruft als die Erstimmunisierung, i.d.R. weniger deutlich auf als nach der Erstimmunisierung (70, 93, 153, 172).

In den Untersuchungen von Axelrod und Mitarbeitern (5, 8, 12) sowie Long (123) äußerte sich jedoch der immundepressive Effekt eines Pyridoxin- oder Vitamin C - Mangels verstärkt bzw. ausschließlich während der Sekundärantwort.

Übereinstimmende Ergebnisse während der Primär- und Sekundärantwort wurden erzielt nach Vitamin A - (143) oder Pantothensäurezufuhr (100, 125), sowie Vitamin C - (87) oder Pyridoxin-Entzug (30).

2.2.4 Antikörperbestimmung

2.2.4.1 Verfahren

Ein Hinweis für die Annahme, daß der Wahl des Antikörperbestimmungsverfahrens bei der Überprüfung immunologischer Fragestellungen eine Bedeutung zukommt, ergibt sich aus endokrinologischen Studien; hier wurde nachgewiesen, daß sich die immunologische Wirksamkeit von Östrogenen nicht gleichermaßen auf alle gegen ein Antigen gerichtete Antikörperarten erstrecken muß (155, 168).

Während die Antitoxinbildung von Vitamin-C-Mangel-Meerschweinchen gegenüber Diphtherietoxoid vermindert war (95), konnte unter gleichen Versuchsbedingungen keine Beeinträchtigung der Bildung hämagglutinierender Antikörper festgestellt werden (87). Kumar und Axelrod (87) führen diese Diskrepanz in erster Linie auf die Bestimmung unterschiedlicher Antikörperaktivitäten zurück.

2.2.4.2 Zeitpunkt

Weiterhin können Unterschiede bezüglich des Zeitpunktes der Immunglobulinbestimmung zur Erklärung der Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen verschiedener Autoren herangezogen werden.

Die Adjuvanswirkung von Vitamin A äußerte sich bei Maus und Meerschweinchen mit wachsendem zeitlichen Abstand von der Immunisierung und damit verbundenem Abfall des Antikörpertiters (84) zunehmend deutlicher (84, 160). In anderen Untersuchungen hingegen (117) waren Vitamin A - Mangeltiere an unterschiedlichen Untersuchungstagen gleichermaßen deutlich den Kontrolltieren in der Antikörperbildung unterlegen.

Den obigen Ausführungen ist zu entnehmen, daß die Ergebnisse der immunologischen Untersuchungen, die unter 2.1 erwähnt wurden, von einer Vielzahl von Variablen in der Versuchsanordnung entscheidend beeinflußt werden können.

2.3 Allgemeine Bedeutung von Cholin

Cholin (Trimethyl- β -oxy-äthyl-ammoniumhydroxid) zählt zur Gruppe der B-Vitamine.

Es ist als Regulator beim Aufbau der Gewebe im tierischen Organismus maßgeblich beteiligt. Ferner ist es eine wichtige Komponente - (dem Serinstoffwechsel entstammende Base) - der Phospholipoide, z.B. der Lecithine, und als solche für den Fettstoffwechsel unentbehrlich. Cholin begünstigt die Verteilung der Fette im Organismus und verhindert eine Fettüberlastung der Leber. Außerdem kommt ihm eine große Bedeutung als Wachstumsfaktor zu, vornehmlich bei der Aufzucht von Jungtieren.

Aufgrund seiner biologisch labilen Methylgruppe dient Cholin als Methylgruppendonator für die Transmethylierungsprozesse. Dadurch ist es in der Lage, einen gewissen Spareffekt auf den Methionin-Verbrauch auszuüben.

Cholin steht zu anderen Vitaminen in Wechselwirkung: Seine Synthese wird durch Vitamin B_{12} und Folsäure gefördert; Cholin beeinflusst den Stoffwechsel von Carotin, Vitamin A und anderen Vitaminen.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Methodik

3.1.1 Tiermaterial, Haltung der Versuchstiere

In allen Versuchen wurden ca. 200g schwere weibliche Sprague-Dawley-Ratten verwandt. Die Tiere wurden in gewichtsgleiche Gruppen eingeteilt und bei einer Raumtemperatur von $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ gehalten. Sie erhielten eine Ratten-Standarddiät ("Altromin-R"), deren Gesamtcholingehalt (freies und gebundenes Cholin) nach den Ergebnissen eigener Analysen durchschnittlich 0,72% betrug. Futter und Wasser standen den Tieren ad libitum zur Verfügung.

3.1.2 Cholin- und Betainapplikation

Cholinchlorid (Firma Merck, Darmstadt) wurde bis zur Gewichtskonstanz über Phosphorpentoxyd getrocknet. Die Cholin- und Betain-Lösungen wurden kurz vor der Injektion mit steriler, phosphatgepufferten Kochsalzlösung (PBS) hergestellt. Der Cholingehalt der Lösung wurde regelmäßig überprüft. Den Kontrollgruppen wurde PBS appliziert.

3.1.3 Immunologische Untersuchungen

3.1.3.1 Antigen

Das Antigen-Human-Serum-Albumin (HSA) wurde nach einer Methode von Proom (120) an Alaun präzipitiert: 150 mg HSA wurden in 2,5 ml PBS gelöst, mit 8 ml aqua dest. verdünnt und anschließend mit 9 ml 10%iger Alaun-Lösung ($\text{K AL}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$) versetzt.

Das Antigen wurde bei pH 6,5 (eingestellt mit 5n NaOH) an Alaun präzipitiert und anschließend abzentrifugiert. Überschüssiges, nicht an Protein gebundenes Alaun wurde durch zweimaliges Waschen des Präzipitats mit jeweils 20 ml PBS entfernt.

3.1.3.2 Immunisierung

Am 4. Tag nach Beginn der Cholinapplikation wurden die Ratten mit 0,25 mg HSA-Alaun/kg Körpergewicht immunisiert.

Das Antigen wurde intravenös, oder subcutan über mehrere Stellen in Lymphknotennähe verteilt, appliziert.

3.1.3.3 Blutentnahme

Die Blutproben wurden mittels Kapillarpipetten aus dem Plexus retroorbitalis der Versuchstiere entnommen.

Die Antikörperkonzentration im Serum wurde am 18., 25. und 30. Tag post immunisationem (p.i.) mit dem Antigen-Bindungs-Kapazitäts-(ABC) Test (41, 110) bestimmt.

3.1.3.4 Antikörper-Bestimmungsverfahren

Das Testverfahren wurde in der Dissertationsschrift von Beck (16) bereits ausführlich beschrieben. Im folgenden soll nur eine kurze Zusammenfassung des ABC-Tests gebracht werden. Das Antigen HSA wurde nach einer Methode von McConahey und Dixon (107) mit ^{125}J markiert. Die anschließende Trennung des freien vom proteingebundenen Jod erfolgte über Gelfiltration an Sephadex G-50. Das in den vorliegenden Untersuchungen verwandte Antigen hatte eine spezifische Aktivität von $13,4 \mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ Stickstoff HSA.

Die Antiserumverdünnungsstufen ($1/10$ - $1/810$) bzw. Kontroll- und Standardproben (10% Normalserum von Ratten in Boratpuffer pH 8,3) wurden zu gleichen Teilen mit markierter Antigenlösung ($0,1 \mu\text{g N}^{125}\text{J-HSA}/\text{ml}$) versetzt.

Im Anschluß an eine 12 - 14stündige Inkubation sämtlicher Ansätze bei 4°C wurden die Antigen-Antikörper-Komplexe bzw. das in den Kontrollproben unspezifisch an Normalserum gebundene Antigen durch 50%ige Sättigung der Proben mit Ammoniumsulfat ausgefällt und abzentrifugiert.

Anschließend wurde in einem aliquoten Teil des Überstandes bei den

Test- und Kontroll-Proben bzw. des Gesamtansatzes bei den Standard-Proben die Aktivität gemessen (Na-Kristall-Szintillationszähler, Fa. Packard) und die Verdünnungsstufe des jeweiligen Antiserums ermittelt, bei der 33% des Antigens durch Antikörper gebunden worden waren.

Dieser Wert wurde nach Errechnung der unspezifischen Präzipitation des Antigens an Normalserum korrigiert. Die Antigen-Bindungs-Kapazität eines Antiserums (ABC - 33; 0,1 μ gN HSA/ml) wird ausgedrückt in μ g N HSA, die pro ml unverdünnten Antiserums gebunden werden. Sie wird im folgenden als Antikörpertiter bezeichnet.

3.1.4 Phagozytose-Testverfahren (3,17)

Das Verfahren basiert auf der Bestimmung der Ausscheidungsrate von Kohlepartikeln aus dem zirkulierenden Blut.

Intravenös injizierte Partikel werden von den Kupfferschen Sternzellen der Leber, den reticuloendothelialen Zellen der Milz sowie des Knochenmarks phagozytiert. Die Eliminierungsgeschwindigkeit der Kohlepartikel aus dem Blutkreislauf kann demnach zur Beurteilung des Funktionszustandes der RES-Zellen herangezogen werden.

Zur Anwendung gelangte eine Rußdispersion (C 11/1431a, Fa. Günther Wagner, Hannover), die 10% Gasruß (Teilchengröße 200-300 Å), 4,3% Fischleim und 10% Karbolsäure in destilliertem Wasser gelöst enthält. Um eventuell vorhandene größere Partikel zu eliminieren, wurde die Dispersion vor Gebrauch 15 min. lang bei 3000 U/min zentrifugiert. Die Eichkurve wurde unter Zusatz verschiedener Mengen der Rußdispersion zu jeweils konstanter Menge hämolysierten Rattenblutes und anschließender Messung der Extinktion im Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 675 nm aufgestellt.

Die Tiere wurden mit 0,3 ml/Equitesin/kg KG narkotisiert. Anschließend wurde ihnen die Rußdispersion in der Dosierung von 8 mg Kohlepartikeln/100g KG intravenös appliziert.

In 2-, 4-, 6-, 10- und 20minütigem Abstand nach der Injektion wurden jeweils 0,025 ml Blut aus der Schwanzvene mittels heparinisierter

Kapillaren entnommen und in 3 ml 0,1% Sodalösung hämoly-
siert.

Im Anschluß daran wurde die Extinktion (bei 675 nm) gegen einen
Blindwert (hämolyisierte Blutprobe vor der Tuscheinjektion) gemessen.

Mit Hilfe der Eichkurve wurden die ermittelten Extinktionswerte in
mg Kohle/ 100 ml Blut umgerechnet. Aus sämtlichen logarithmierten Werten
eines Tieres wurde der Regressionskoeffizient (Phagozytoseindex K)
berechnet. Der korrigierte Phagozytoseindex (α) ergibt sich aus
der Formel:

$$\alpha = \frac{KG}{LMG} \sqrt[3]{K}$$

KG= Körpergewicht

LMG= Leber- + Milzgewicht

K= Phagozytoseindex

3.1.5 Cholin-Bestimmung

Das angewandte Verfahren basiert auf der Präzipitation des Cholins mit
Kieselwolframsäure und anschließender colorimetrischer Bestimmung des
Komplexes (166).

Zur Erfassung des Gesamt-Cholingehaltes in Serum- (0,25 ml) und Leber-
proben (50mg) wurden die Lipidfraktionen jeweils mit 10 ml eines Ge-
mischtes aus Äthanol und Aceton (1:1) extrahiert (118, 38). Der sich
bildende Proteinniederschlag und der Gewebsrückstand (bei den Leberproben)
wurden abfiltriert. Die Lipide aus Futterproben (1,0g) wurden mindestens
48 h lang mit 300 ml Methanol im Soxhleth-Apparat extrahiert (51).
Sämtliche Extrakte wurden bis zur Trockne eingedampft und mit 10 ml
Bariumhydroxid-Lösung versetzt.

Im Anschluß an die Verseifung der Ansätze (2 h im Rückflußkühler bei
80-100°C) wurden die überschüssigen Barium-Ionen mit 10%iger Schwefelsäure
präzipitiert. In Anwesenheit von Phenolphthalein wurde der Ansatz
tropfenweise mit 1 n NaOH bis zum Farbumschlag des Indikators und

anschließend mit 1 n HCl bis zu seiner Entfärbung versetzt. Das Präzipitat wurde abzentrifugiert und der Überstand im Vakuumschrank bei 40°C bis zur Trockne eingedampft.

Nach Lösen des Rückstandes in Äthanol und anschließender Filtration wurden der äthanolische Extrakt auf 0,2 ml eingeengt und das Cholin mit 5 ml frisch filtrierter, ätherischer Kieselwolframsäurelösung (50 mg Kieselwolframsäure + 1 ml Äthanol, ad 10 ml mit Äther) präzipitiert. Der Niederschlag wurde bei 4.500 U/min und 4°C abzentrifugiert, in 3,5 ml aqua dest. gelöst und mit 2 ml 6,7%iger Natriumhydrosulfitlösung versetzt. Zur Stabilisierung des entstandenen Farbkomplexes wurden 0,5 ml 1 n NaOH zugegeben.

Anschließend erfolgte die Messung der Extinktion im Spektralphotometer bei einer Wellenlänge von 650 nm und die Errechnung des Cholingehaltes der Probe anhand einer Eichkurve.

3.1.6 Histologische Untersuchungen

Die zu Versuchsende gewonnenen Leberproben wurden in 10%igem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die 7 μ dicken Schnitte wurden mit Hämalaun-Eosin gefärbt.

Es wurde die durchschnittliche Anzahl RES-Zellen pro Flächeneinheit bestimmt. Dazu wurden in 10 verschiedenen Lokalisationen eines Organs jeweils 10 Flächeneinheiten ausgezählt.

Zur Leukozyten-Zählung im Blut diente das "Fisher-Atuocytometer II".

3.1.7 Statistik

Bei den vorgelegten Ergebnissen sind jeweils die Mittelwerte und ihre Standardfehler ($\bar{s}_x$) angegeben. Mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse, des t-Tests und des Mann-Whitney U-Tests wurden Gruppenunterschiede auf ihre Signifikanz hin geprüft.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Voruntersuchungen

In umfangreichen Voruntersuchungen wurden neben der Dosierung und Applikationshäufigkeit des Cholins die Antigendosis und der Zeitpunkt der Antikörperbestimmung im Serum variiert.

Die Cholinapplikation erfolgte in Anlehnung an Phagozytoseversuche, in denen eine parenterale Verabreichung von täglich bis zu 40 mg Cholinchlorid/kg KG über 3 und 7 Tage an konventionell ernährte Ratten und Mäuse zu einer Stimulierung der RES-Aktivität führte (3, 4, 33).

Cholinapplikation erschien unter Berücksichtigung dieser Literaturbefunde sinnvoll.

Vitaminabhängige Unterschiede in der Antikörperbildung äußern sich i.d.R. nach Verwendung schwacher Antigenstimuli deutlicher als nach starkem antigenen Reiz (s.2.2). Daher wurde in den Voruntersuchungen einerseits mit der niedrigen Antigendosierung von 0,25 mg HSA-Alaun/kg KG, andererseits vergleichend dazu mit der 5-fach höheren Dosis von 1,25 mg HSA-Alaun/kg KG immunisiert.

Die Antikörpertiter im Serum wurden zu Beginn erfaßbarer Immunglobulinkonzentrationen (11. Tag post immunisationem (p.i.)), während des Titeranstiegs (18. Tag p.i.) und kurz vor Erreichen des Maximums der Antikörperbildung (25. Tag p.i.) bestimmt.

Unter Berücksichtigung von Untersuchungen an Maus und Meerschweinchen mit ähnlicher Fragestellung (84, 160) erschien die Einbeziehung mehrerer Blutentnahmetage in die vorliegende Arbeit angebracht.

Tabelle 14

Voruntersuchungen

Einfluß von Cholin auf die Antikörperbildung bei Ratten nach subcutaner Immunisierung mit 0,25 bzw. 1,25 mg HSA-Alaun/kg KG

		0,25 mg HSA-Alaun ⁷ /kg KG			1,25 mg HSA-Alaun ⁷ /kg KG			
Gruppe	Dosierung mg/kgKG/Tag	n	ABC Tage post immunisationem $1^* \pm s\bar{x}$		n	ABC Tage post immunisationem $1^* \pm s\bar{x}$		
			11	18		25	11	18
Kontrolle	-	10	0,24 ± 0,06	1,65 ± 0,38	9	0,36 ± 0,08	3,14 ± 0,61	8,71 ± 1,50
Cholinchlorid 20 ²⁾		17	0,18 ± 0,05	1,48 ± 0,27	18	0,32 ± 0,05	2,77 ± 0,34	7,84 ± 0,79
Kontrolle	-	10	0,17 ± 0,04	0,96 ± 0,22	10	0,39 ± 0,07	2,53 ± 0,40	6,60 ± 1,01
Cholinchlorid 20 ³⁾		16	0,19 ± 0,04	1,44 ± 0,22	18	0,29 ± 0,04	2,74 ± 0,26	7,85 ± 0,48
Kontrolle	-	10	0,22 ± 0,07	1,23 ± 0,24	12	0,37 ± 0,05	2,31 ± 0,25	6,77 ± 0,72
Cholinchlorid 10 ⁴⁾		17	0,21 ± 0,04	1,69 ± 0,28	17	0,36 ± 0,03	2,87 ± 0,27	8,02 ± 0,59
Cholinchlorid 20 ⁵⁾		17	0,20 ± 0,03	1,69 ± 0,21	17	0,25 ± 0,06	2,12 ± 0,34	6,13 ± 0,77
Kontrollen ⁶⁾	-	30	0,21 ± 0,03	1,28 ± 0,17	31	0,31 ± 0,04	2,64 ± 0,24	7,28 ± 0,61

*Die Mittelwerte verschiedener Gruppen, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, unterscheiden sich signifikant (mindestens $p < 0,05$) voneinander

¹⁾ Antigen-Bindungs-Kapazität (ABC-33¹⁰, 1 μ g HSA-N/ml: gebundener HSA-N in μ g/ml Antiserum

²⁾ x tägl. 10 mg i.p. an 3 aufeinanderfolgenden Tagen

³⁾ x 20 mg i.p. an 7 aufeinanderfolgenden Tg.
⁴⁾ x 10 mg i.p. an 28 aufeinanderfolgend. Tg.
⁵⁾ x 20 mg i.p. an 28 aufeinanderfolgend. Tg.
⁶⁾ Zusammenfass. d. 3 sich nicht signifik. unterscheidenden Kontrollgruppen

⁷⁾ alaunpräzipitiertes Human-Serumalbumin

Aus einem Vergleich der immunologischen Ergebnisse korrespondierender Versuchsgruppen aus Tabelle 14 geht hervor, daß eine Erhöhung der Antigendosis um das 5-fache zu einer Steigerung der Immunantwort um ca. 50% (18. Tag p.i.) bzw. mehr als 100% (25. Tag p.i.) führte.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, zeichnete sich lediglich nach Immunisierung mit der niedrigen Antigendosierung ein Einfluß von Cholin auf die Antikörperbildung ab.

Eine 7- oder 28- tägige Cholinzufuhr führte zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Steigerung der Immunglobulinbildung. Dieser Befund konnte allerdings lediglich am 25. Tag p.i. erhoben werden.

Diese Ergebnisse wurden bei der Festlegung der Versuchsanlage in den Hauptversuchen berücksichtigt.

3.2.2 Einfluß von Cholin und Betain auf die Antikörperbildung

Tabelle 15 gibt Auskunft über die Antikörperbildung subcutan immunisierter Ratten nach der Applikation von Cholin (10 bzw. 100mg/kg KG) bzw. Betain (8,5 mg/kg KG, d.h. äquimolar zu 10 mg Cholin).

In einem 2. Versuch (siehe Tabelle 16) wurde die Cholindosis auf 300 mg erhöht; neben der subcutanen Immunisierung wurde die intravenöse Verabreichung des Antigens, welche zu einer geringeren Immunstimulation führte, vorgenommen.

Tabelle 15

Versuch 1

Einfluß von Cholin und Betain auf die Antikörperbildung von Ratten nach subcutaner Immunisierung

Gruppe	Dosierung ² (mg/kg KG)	n	Tage ¹⁸ post immunisationem ³⁰	ABC ¹ ± s _x 25
Kontrolle	--	26	0,93 ± 0,12	2,00 ± 0,24
Cholinchlorid	10	30	1,13 ± 0,15	2,22 ± 0,27
Cholinchlorid	100	30	1,19 ± 0,18	2,06 ± 0,28
Betain	8,5	26	1,39 ± 0,20	2,43 ± 0,30

¹ siehe Fußnote 1 Tabelle 14

² 1x täglich intraperitoneal; 1%ig (10 bzw. 8,5 mg) bzw. 10%ig (100 mg);
an 33 aufeinanderfolgenden Tagen

Tabelle 16

Versuch 2

Einfluß von Cholin² auf die Antikörperbildung von Ratten nach subcutaner und intravenöser Immunisierung.

Immunisierung	Gruppe	n	ABC ¹ ± s _x			
			Tage post immunisationem			
			18	25	30	
SUBCUTAN	Kontrolle	25	1,49 ± 0,15	3,65 ± 0,33	3,35 ± 0,33	
	Cholinchlorid	25	1,92 ± 0,19	3,51 ± 0,31	3,97 ± 0,38	
INTRAVENÖS	Kontrolle	26	0,92 ± 0,15	2,03 ± 0,39	1,74 ± 0,25	
	Cholinchlorid	24	1,15 ± 0,16	2,22 ± 0,29	2,24 ± 0,32	
¹ siehe Fußnote 1 Tabelle 14 ² 2x täglich 150 mg/kg KG; 10%ig; morgens intraperitoneal, abends subcutan; an 33 aufeinanderfolgenden Tagen.						

Sämtliche Versuchsgruppen unterschieden sich in ihrer Antikörperbildungs-kapazität nicht von den korrespondierenden Kontrollgruppen. Somit konnte kein Einfluß von Cholin oder Betain auf die Immunantwort weiblicher Ratten nachgewiesen werden. Wie aus Tabelle 16 hervorgeht, fielen die Titer der Kontrollgruppen zwischen dem 25. und 30. Tag p.i. ab, während bei den Cholingruppen mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der Immunisierung keine deutliche Änderung (intravenöse Immunisierung) und sogar ein Anstieg (subcutane Immunisierung) der Immunglobulinkonzentration im Serum beobachtet wurden. Dieser Befund deutet auf einen Einfluß von Cholin auf die zeitliche Verlaufsform der Antikörperbildung bei Ratten hin; er war jedoch in dem 1. Versuch nicht erhoben worden.

Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen beider Versuche ist möglicherweise auf jahreszeitlich bedingte Schwankungen in der Antikörperbildungskapazität der Ratten zurückzuführen: Im Sommer (Versuch 1) wurden deutlich niedrigere Antikörpertiter gemessen als im Winter (subcutan immunisierte Gruppen des Versuchs 2).

3.2.3 Einfluß parenteraler Cholin- bzw. Betainapplikation auf Körper- und Lebergewicht sowie Cholingehalt im Serum und Leber

Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 zusammengefaßt.

Während die Körpergewichtsentwicklung der Ratten keine Abhängigkeit von deren Cholin- oder Betainversorgung zeigte, wurde das Lebergewicht durch die tägliche Zufuhr der höchsten Cholindosis (300 mg/kg KG) deutlich angehoben ($p < 0,05$).

Tabelle 17

Einfluß parenteraler Cholin- bzw. Betainapplikation auf Körper- und Lebergewicht sowie Cholingehalt in Serum und Leber
(Bestimmung 16-24 h nach letzter Injektion)

Versuch	Gruppe	Dosierung ¹ (mg/kg KG)	n	Körpergewicht(g) $\bar{x} \pm \bar{s}$	Lebergewicht in % d. Körper- gewichts $\bar{x} \pm \bar{s}$	Cholin ² Serum (mg/kl)	Cholin ² Leber (mg/g)
1	Kontrolle	--	26	237,70 $\pm$ 2,22	3,80 $\pm$ 0,06	0,52	4,533
	Cholinchlorid	10	30	136,67 $\pm$ 2,07	3,83 $\pm$ 0,06	0,59	4,47
	Cholinchlorid	100	30	241,50 $\pm$ 2,51	3,89 $\pm$ 0,07	0,58	4,21
	Betain	8,5	26	245,60 $\pm$ 3,35	3,88 $\pm$ 0,07	0,56	4,30
2	Kontrolle	--	25	218,60 $\pm$ 2,82	3,32 ^a $\pm$ 0,05	0,47	3,11
	Cholinchlorid	300	25	217,88 $\pm$ 3,72	3,64 ^a $\pm$ 0,08	0,51	3,58

^xDie Lebergewichtswerte verschiedener Gruppen, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$) voneinander.

¹siehe Tabelle 15 und 16, Fußnote 1

²Bestimmung im Pool von jeweils n Proben.

Der Serumcholin Spiegel lag bei allen Versuchsgruppen nur geringfügig über dem Wert der Kontrollgruppen. Auch in der Leber war keine Speicherung parenteral zugeführten Cholins nachweisbar.

3.2.4 Einfluß von Cholin auf die Leukozytenzahl im Blut

Die Leukozytenzahl im Blut der Ratten blieb durch die Applikation von Cholin unbeeinflusst (s. Tab. 18).

Tabelle 18

Einfluß von Cholin¹ auf die Leukozytenzahl² des Blutes

Gruppe	n	Leukozytenzahl/mm ³ Blut $\pm s_{\bar{x}}$
Kontrolle	25	8.992 $\pm$ 815
Cholinchlorid	24	9.815 $\pm$ 607
¹ 2x täglich 150 mg/kg KG, 10%ig; morgens intraperitoneal, abends subcutan; an 18 aufeinanderfolgenden Tagen. ² Bestimmung 12-16 h nach letzter Cholininjektion.		

3.2.5 Einfluß von Cholin auf die Aktivität des RES in der Leber

Die Ergebnisse histologischer Untersuchungen in der Leber sind in Tabelle 19 aufgeführt.

Tabelle 19

Einfluß von Cholin¹ auf die Aktivität des reticuloendothelialen Systems der Leber

Gruppe	n	Anzahl RES-Zellen/Flächeneinheit $\pm \frac{s}{\bar{x}}$
Kontrolle	10	67,37 $\pm$ 4,00
Cholinchlorid	10	65,68 $\pm$ 3,34
¹ 1x täglich 10 mg/kg KG, 1%ig, intraperitoneal; an 33 aufeinanderfolgenden Tagen.		

Die Aktivität des RES in der Leber, gemessen an der Anzahl reticuloendothelialer Zellen pro Flächeneinheit, blieb durch die Cholinbehandlung unbeeinflusst.

3.2.6 Einfluß von Cholin auf die Phagozytoserate

In Anlehnung an Untersuchungen anderer Autoren (3, 4, 33) wurde der Einfluß von Cholinchlorid auf die Phagozytoserate untersucht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 20 zusammengefaßt.

Die Phagozytoseindizes der Cholingruppen lagen im Kontrollbereich. Somit konnte kein Einfluß von Cholin auf die Phagozytoseaktivität des RES bei Ratten nachgewiesen werden.

Tabelle 20

Einfluß von Cholin auf die Phagozytoserate ¹

Versuchsgruppe	n	Dosierung ² (mg/kg KG)	Phagozytoseindex (K) $\pm s_{\bar{x}}$	korrigierter Phagozytoseindex (α) $\pm s_{\bar{x}}$
Kontrolle	21	--	$0,027 \pm 0,003$	$6,85 \pm 0,18$
Cholinchlorid	17	5	$0,032 \pm 0,003$	$6,88 \pm 0,30$
Cholinchlorid	18	150	$0,026 \pm 0,002$	$6,91 \pm 0,19$

¹Phagozytostetest 12-18 h nach letzter Cholininjektion.

²2x täglich, 1%ig (5mg) bzw. 10%ig (150mg); morgens intraperitoneal, abends subcutan;
an 3 aufeinanderfolgenden Tagen.

4. Diskussion

Gegenstand dieser Arbeit war die Überprüfung des Einflusses von Cholin auf die Antikörperbildung von Ratten.

Während eine Stimulierung der Phagozytoseaktivität des RES bei Ratten und Mäusen durch parenterale Cholin-Zufuhr als erwiesen gilt (3, 4, 33, 61, 62), wurde der Frage nach der immunologischen Wirksamkeit des Vitamins bislang keine nennenswerte Beachtung geschenkt (siehe 1).

Da die Phagozytose des Antigens der Antikörperbildung i.d.R. vorausgeht, läge ein immunitätssteigernder Effekt des Vitamins nahe.

In der vorliegenden Arbeit wurde alaunpräzipitiertes Human-Serum-Albumin (HSA-Alaun) - lösliches HSA war bei Ratten nicht immunogen - als Antigen verwandt, welches vor Induktion der Antikörperbildung phagozytiert wird (72). Das Antigen wurde in relativ niedriger Dosierung verabreicht, nachdem sich in Voruntersuchungen an ca. 200 Ratten ein immunitätssteigernder Effekt des Cholins nach der Immunisierung mit 0,25 mg HSA-Alaun andeutete, nicht hingegen nach Verwendung einer 5-fach höheren Antigendosis.

Ergebnissen von Untersuchungen über die immunologische Wirksamkeit von Östrogenen zufolge, die von der Applikationsart abhängig waren (168), wurde das Antigen auf zwei verschiedene Arten, subcutan oder intravenös, verabreicht.

In den eigenen Versuchen lagen die Antikörper-Titer der intravenös immunisierten Gruppen unter den Werten der korrespondierenden subcutan immunisierten Gruppen. Zu einem gegenteiligen Ergebnis führten Immunisierungsversuche an Kaninchen mit Virus- oder Erythrozyten-antigen (36, 171).

Wie unter Abschnitt 2.2 ausgeführt, können Ergebnisse von Untersuchungen vorgelegter Art an verschiedenen Versuchstagen u.U. erheblich voneinander abweichen. Daher wurden die Antikörpertiter der Ratten in verschiedenen zeitlichen Abständen nach der Immunisierung, und zwar während des Antikörperanstiegs, zum Zeitpunkt maximaler Immunglobulinkonzentration und zu Beginn des Titerabfalls bestimmt.

In der vorliegenden Arbeit konnte durch parenterale Cholinzufuhr keine Beeinflussung der Antikörperbildung konventionell ernährter weiblicher Ratten erzielt werden. Auch Betain, welches in enger biochemischer Wechselwirkung zu Cholin steht (52, 82, 157, 183) und cholinähnliche physiologische Wirkungen zeigt (82, 90, 173), war in parallel geführten Versuchen in dieser Hinsicht wirkungslos. Der phagozytosesteigernde Effekt des Cholins wurde nach parenteraler Verabreichung von 10 oder 40 mg Cholin/kg KG tägl. über 3 Tage bei konventionell ernährten Ratten beobachtet (3,4,33). Diese Dosierung liegt in Anbetracht des täglichen Cholinbedarfs einer Ratte, der mit ca. 150 mg/kg KG angegeben wird (105), relativ niedrig. Daher wurden in den eigenen Untersuchungen den mit einem Standardfutter versorgten Ratten neben äquivalent niedriger Dosierung bis zu 300 mg Cholin/kg KG und Tag (doppelter Tagesbedarf) appliziert.

Die Wahl dieses Dosisbereiches erschien aufgrund der Feststellung, daß bei einer Dosierung von 400 mg Cholin/kg KG tägl. über 3 Tage bereits eine ausgeprägte Verminderung des Phagozytosevermögens beobachtet wurde (3), gerechtfertigt.

Eine Beeinflussung der Körpergewichtsentwicklung der Versuchstiere durch die Zufuhr unterschiedlicher Cholinmengen wurde in Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (128) nicht beobachtet.

Hingegen zeigte sich mit der Erhöhung der Cholindosis eine deutliche Zunahme der Lebergewichte ($p < 0,05$; s. Tab. 17). Demgegenüber stehen Befunde (4, 128) über eine Lebergewichtsdepression bei Ratten nach parenteraler Applikation von Cholin (40 mg Cholin/kg KG tägl. über 3 Tage an konventionell ernährte Ratten) oder oraler Zufuhr des Vitamins (Basaldiät, angereichert mit bis zu 1,35% Cholinchlorid).

Der Gesamtcholingehalt (freies und gebundenes Cholin) in Serum und Leber lag bei allen Versuchsgruppen nur geringfügig (um ca. 10%) über dem Kontrollgruppenwert. Untersuchungen von Jacobi und Mitarbeitern zufolge beeinflussten unterschiedliche Cholinkonzentrationen in der Diät (auch nach vorausgegangenem Cholinmangel) den Cholingehalt im Rattengewebe (Leber, Niere, Gehirn, Muskel) ebenfalls nicht (76).

Da die immunologischen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den erwähnten Berichten (3, 4, 33) über den phagozytosesteigernden Effekt

des Vitamins nicht im Einklang standen, wurde in ergänzenden Untersuchungen der Einfluß von Cholin auf die Phagozytoserate bei weiblichen Ratten untersucht. Bei der Festlegung der Versuchsanlage wurden die in diesen Arbeiten (3, 4, 33) beschriebenen wesentlichen Versuchs-kriterien - parenterale Cholingaben (10 mg bzw. 40 mg Cholin/kg KG tägl. über 3 Tage) an konventionell ernährte weibliche Ratten. Phagozytostest innerhalb 24^h nach letzter Cholinapplikation - berücksichtigt.

In Übereinstimmung mit den immunologischen Ergebnissen der eigenen Untersuchungen wurde auch die Phagozytoseaktivität der Versuchstiere durch Cholinapplikation nicht beeinflusst.

Histologische Leber- und Blutuntersuchungen ergaben ebenfalls keine Anhaltspunkte für einen Einfluß des zugeführten Cholins auf das reticuloendotheliale System. Andere Autoren hingegen beobachteten bei cholinbehandelten Ratten bereits bei der geringen Dosierung von 1mg/Tier tägl. über 3 Tage eine histiozytäre Proliferation in der Leber (79) sowie Leukozytose des Blutes (35).

Die Diskrepanzen zwischen den unter eigenen Versuchsbedingungen gewonnenen und den der Literatur entnommenen Ergebnissen sind offensichtlich. Das Vitamin Cholin zeigte den Befunden der vorgelegten Arbeit zufolge weder bei niedriger noch bei hoher Dosierung einen phagozytosesteigernden bzw. die humorale Immunitätsausbildung fördernden Effekt. Abgesehen von der Frage, ob die in den zitierten Arbeiten (3, 4, 33, 61, 62) verwendeten Diäten einerseits, sowie die Cholindosierungen bzw. die jeweilige Dauer der Applikation andererseits ausreichend waren, kann bei der Überprüfung des Cholin-Effekts auf den Immunstatus eine Vielzahl anderer Variablen in der Versuchsanordnung - wie unter 2.2 bereits ausführlich diskutiert - die Ergebnisse maßgeblich beeinflussen.

In diesem Falle ist möglicherweise eine stamesspezifisch unterschiedliche Beeinflussung des Immun- und reticuloendothelialen Systems von Ratten in Erwägung zu ziehen, da in den eigenen Untersuchungen ausschließlich weibliche Sprague-Dawley-Ratten verwandt wurden, während den oben zitierten Autoren weibliche Wistar-Ratten als Versuchstiere dienten.

Unterstützung findet die Annahme, daß Cholin die RES-Aktivität von Ratten stammesspezifisch unterschiedlich zu beeinflussen vermag, auch durch Befunde anderer Autoren. Spratt und Kratzing (139) konnten - in Übereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen - bei einem institutseigenen Rattenstamm keinen phagozytosesteigernden Effekt parenteraler Cholinzufuhr (1-2mg Cholin/tägl. über 3 Tage) nachweisen. Ferner ist bekannt, daß das Immunsystem von Mäusen auf Östrogenapplikation stammesspezifisch unterschiedlich reagiert (144).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Einfluß von Cholin auf Antikörperbildung und Phagozytose bei Ratten

Der Einfluß parenteraler Cholinapplikation (10-300 mg/kg Körpergewicht und Tag) auf die Immunantwort und Phagozytoseaktivität konventionell ernährter weiblicher Ratten wurde untersucht.

Daneben wurde die immunologische Wirksamkeit von Betain überprüft.

Am 4. Behandlungstag wurden die Tiere subcutan bzw. intravenös mit alaunpräzipitiertem Human-Serum-Albumin immunisiert. Die Antikörpertiter im Serum wurden am 18., 25., und 30. Tag post immunisationem mit dem Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test bestimmt. Zur Messung der Phagozytoseaktivität im Anschluß an eine 3tägige Cholinbehandlung diente der Tusche-Clearance-Test.

Es konnte kein Einfluß von Cholin auf die Immunantwort und Phagozytoserate weiblicher Ratten nachgewiesen werden. Auch Betain zeigte diesbezüglich keine immunologische Wirksamkeit.

Histologische Leber- und Blutuntersuchungen ergaben ebenfalls keine Anhaltspunkte für einen Einfluß des Cholins auf das reticuloendotheliale System.

S U M M A R Y

Influence of choline on antibody-production and phagocytosis in rats

The influence of parenterally administered choline (10- 300 mg/kg body-weight and day) on the immunoresponse and phagocytic activity was investigated in female rats. Furthermore, immunoresponse as affected by betain was also studied.

By the forth day of treatment the animals were immunized by subcutaneous or intravenous injection of alumprecipitated human serumalbumin. Antibody-titers were determined employing the Antigen-Binding-Capacity-Test on day 18, 25 and 30 following immunization. Phagozytic activity was measured after a three-day-treatment with choline using the Carbon-Clearance-Test.

Choline did neither influence immunoresponse nor phagocytosis in female rats. Betain also did not exert an immunological effect.

These findings were confirmed by histological liver and blood examinations.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

(abgekürzt nach Int. Bibliogr. d. Titelabkürzungen,
Otto Leistner, Biblio Verlag - Osnabrück 1970)

1. Agnew, L.R.C., Cook, R., 1949
Antibody production in pyridoxine-deficient rats
Brit. J. Nutr. 2/4, 321
2. Ainbender, E., Weisinger, R.B., Hevizy, Ml. Hodes, H.L., 1968
Difference in the immunoglobulin class of polioanti-
body in the serum of men and woman
J. Immun. 101, 92
3. Altura, B.M., Hershey, S.G., Hyman, D.C. 1966
Influence of choline on the reticuloendothelial system
and on survival after experimental shock
RESJ. 3, 57
4. Altura, B.M., Hershey, S.G., Mazzia, V.D.B. 1965
Influence of choline pretreatment on phagocytosis and on
survival after experimental shock
RESJ. 2, 347
5. Axelrod, A.E., 1971
Immune processes in vitamin deficiency states
Am.j.clin. nutr. 24, 265
6. Axelrod, A.E., 1968
Nutrition in relation to acquired immunity.
In "Modern nutrition, health and disease"
edited by M.G. Wohl & R.S. Goodhart, 4th edit., 612
Philadelphia: Lea & Febiger
7. Axelrod, A.E., 1960
Nutrition in relation to acquired immunity.
In "Modern nutrition, health and disease"
edited by M.G. Wohl & R.S. Goodhart, 2nd edit., 550
Philadelphia: Lea & Febiger
8. Axelrod, A.E. 1958
The role of nutritional factors in the antibody responses
of the anamnestic process
Am.j.clin. nutr. 6, 119

9. Axelrod, A.E., 1953
Role of the vitamins in antibody production
Met. 2, 1
10. Axelrod, A.E., Carter, B.B., Mc Coy, R.H., Geisinger, R., 1947
Circulating antibodies in vitamin-deficiency states:
I. Pyridoxine, riboflavin and pantothenic acid deficiencies
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 66, 137
11. Axelrod, A.E., Hopper, S.J., 1960
Effects of pantothenic acid, pyridoxine and thiamin deficiencies upon antibody formation to influenza virus PR-8 in rats
J. Nutr. 72, 325
12. Axelrod, A.E., Hopper, S.J., Long, D.A., 1961
Effects of pyridoxine deficiency upon circulating antibody formation and skin hypersensitivity reactions to diphtheria toxoid in guinea pigs
J. Nutr. 74, 58
13. Axelrod, A.E., Pruzansky, J., 1955
The role of the vitamins in the antibody production
Vitam. Horm. 13, 1
14. Axelrod, A.E., Trakatellis, A.C., 1964
Relationship of pyridoxine to immunological phenomena
Vitam. Horm. 22, 591
15. Beaver, D.L., 1961
Vitamin A deficiency in the germ-free rat
Am. j. path. 38, 335
16. Beck, E., 1974
Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung beim Küken
Diss. med. vet., München
17. Biozzi, G., Benacerraf, B., Halpern, B.N., 1953
Quantitative study of the granulopoietic activity of the reticulo-endothelial system.
II: A study of the kinetics of the granulopoietic activity of the R.E.S. in relation to the dose of carbon injected.
Relationship between the weight of the organs and their activity.
Brit. J. Exp. Path. 34, 441

18. Blackberg, S.N., 1927
Effect on the immunity mechanism of various avitaminoses
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 25, 770
19. Bourne, G.H., 1948
Vitamin C and immunity
Brit. J. Nutr. 2, 341
20. Bourne, G.H., 1935
Unveröffentlichte Angabe bei:
Bourne, G.H. 1948
Vitamin C and immunity
Brit. J. Nutr. 2, 341
21. Büsing, K.H., 1950
Über die Bedeutung des Vitamin B₆ für die Immunkörper-
synthese bei der Ratte
Int. Z. Vit. Forsch. 22, 313
22. Butturini, U., Casa, G., 1955
Modificazioni indotte dall' acido ascorbico, dal tocoferolo
e dal bleu di metilene sugli anticorpi antistreptolisinici
Acta Vitam. 2, 65
23. Carter, B.B., Axelrod, A.E., 1948
Circulating antibodies in vitamin deficiency states:
II. Thiamin and biotin deficiencies
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 67, 416
24. Chevrement, M., 1944
The determinism of the formation of the histiocytary
cells; the role of choline.
J. Morphol. 75, 139
25. Cohen, B.E., Cohen. K., 1973
Vitamin A: Adjuvant and steroid antagonist in the
immune response
J. Immun. 111, 1376
26. Cordingley, J., Nicol, T., 1961
Effect of added vitamins on the phagocytic activity of
the reticulo-endothelial system of mice
Nature (London) 191, 82

27. Cottingham, E., Mills, C.A., 1943
Influence of environmental temperature and vitamin-
deficiency upon phagozytic functions
J. Immun. 47, 493
28. Cramer, W., Kingsbury, A.N., 1924
Local and general defences against infections, and the effect
on them of vitamin-deficiency
Brit. J. Exp. Path. 5, 300
29. Cramer, W., 1923
On the mode of action of vitamins
Lanc. I, 1046
30. Davis, S.D., 1974
Immunodeficiency and runting syndrome in rats from con-
genital pyridoxine deficiency
Nature, 251, 548
31. de Duve, C., 1963
In: "Lysosomes"
hrsg. von A.V.S. de Reuck and M.P. Cameron, S.1
Little, Brown & Company, Boston
32. di Luzio, N.R., Blickens, D.A., 1966
Influence of intravenously administered lipids on
reticuloendothelial function
RESJ. 3, 250
33. di Luzio, N.R. 1955
Effect of x-irradiation and choline on the reticuloendo-
thelial system of the rat
Am. j. physiol. 181, 595
34. Dingle, J.T., 1961
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
III. Release of a bound protease by the action of vitamin A
Biochem. J. 79, 509
35. Dinning, J.S., Payne, L.D., Day, P.L. 1951
The influence of folic acid, vitamin B₁₂ and methyl donors
on white blood cell production in rats.
J. Nutr. 43, 525

36. Draper, L.R., Sussdorf, D.H. 1957
The serum hemolysin response in intact and splenectomized rabbits following immunization by various routes.
J. infect. Dis. 100, 147
37. Dresser, D.W., 1968
Adjuvanticity of vitamin A
Nature (London) 217, 527
38. Egsgaard, J., 1949
On the determination of the phosphatide-content of serum
Acta physiol. Scand. 16, 171
39. Eidinger, D., Garrett, T.J., 1972
Studies on the regulatory effects of the sex hormones on antibody formation and stem cell differentiation
J.exp. med. 136, 1098
40. Falconer, E., 1926
Blood counts in vitamin A deficiency disease with special reference to platelets
Am. j. physiol. 76, 145
41. Farr, R.S., 1958
A quantitative immunochemical measure of the primary interaction between I-BSA and antibody
J. infect. Dis. 103, 239
42. Fell, H.B., Dingle, J.T., Webb, M., 1962
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
IV. The specificity of the effect on embryonic chicklimb cartilage in culture and on isolated rat-liver lysosomes
Biochem. J. 83, 63
43. Feller, A.E., Roberts, L.B., Ralli, E.P., Francis, Th., 1942
Studies on the influence of vitamin A and vitamin C on certain immunological reactions in man
J. clin. Invest. 21, 121
44. Freund, R., 1932
Beiträge zur Vitaminwirkung auf infektiöse, abakteriell-entzündliche und Immunitätsvorgänge bei Tieren.
Versuche mit Vitamin D
Z. f. Hyg. 113, 361

45. Friedman, R.M., Buckler, S.C., Baron, S., 1961
The effect of aminomethylpteroylglutamic acid on the development of skin hypersensitivity and on antibody formation in guinea pigs.
J. exp. med. 114, 173
46. Furness, G., Axelrod, A.E., 1959
The effect of deficiencies of thiamine, pyridoxine and pantothenic acid on the macrophages of the rat
J. Immun. 83, 133
47. Garbe, K., 1957
Die Veränderungen des Nucleinsäurestoffwechsels der Vitamin A- frei ernährten Ratte unter besonderer Berücksichtigung der analytischen Methoden
Diss. med. vet., München
48. Gebhardt, B.M., Newberne, P.M. 1974
Nutrition and immunological responsiveness.
T-cell function in the offspring of lipotrope- and protein-deficient rats
Immun. 26, 489
49. Gellhorn, E., Dunn, J.O., 1937
The influence of lack of vitamin A in the diet on the phagocytosis promoting properties of the blood serum
J. Nutr. 13, 317
50. Giunchi, G., Scuro, L.A., Sorice, F., Fidanza, A., 1953
Acido pantitenico e produzione di anticorpi
Riv. Ist. sieroter. ital. 28, 281
51. Glick, D., 1944
Concerning the reineckate method for the determination of choline
J. Biol. Chem. 156, 643
52. Griffith, H.H., Mulford, D.J., 1941
Choline metabolism. VI. Hemorrhagic degeneration and the labile methyl supply
J. Am. chem. Soc. 63, 929

53. Gross, R.L., Reid, J.V.O., Newberne, P.M., Burgess, B., Maston, R., Hift, W., 1975
Depressed cell-mediated immunity in megaloblastic anemia due to folic acid deficiency
Am.j.clin. Nutr. 28, 225
54. Golodets, G.G., Putshkov, I.V., 1948
Influence of "mediators" on phagocytic activity of leucocytes
Physiol. J. USSR 34, 143
55. Gontzea, I., 1974
Nutrition and anti-infectious defence
S. Karger - Basel-München-Paris-London-New York-Sydney, 2nd ed.
56. Greene, M.R., 1933
The effects of vitamin A and D on antibody production and resistance to infection
Am. J. Hyg. 17, 60
57. Harmon, B.G., Miller, E.R., Hoefer, J.A., Ullery, D.E., Luecke, R., 1963
Relationship of specific nutrient deficiencies to antibody production in swine
II. Pantothenic acid, pyridoxine or riboflavin
J. Nutr. 79, 269
58. Harmon, B.G., Miller, E.R., Ullery, D.E., Hoefer, J.A., 1960
Effect of vitamin A deficiency on the antibody producing ability of swine
J. Anim. Sci. 19, 1265
59. Hartley, P., 1948
Discussion on nutrition and resistance to infection
Proc. R. Soc. Med. 41, 328
60. Heinzerling, R.H., Tengerdy, R.P., Wick, L.L., Lueker, D.C., 1974
Vitamin E protects mice against *Diplococcus pneumoniae* type I infection
Infect. Immun. 10, 1292

61. Heller, J.H., 1955
Effects of cortisone, choline and radiation upon the
reticuloendothelial system
Fed. Proc. 14, 224
62. Heller, J.H., 1953
Stimulation of the reticuloendothelial system with
choline
Scie. 118, 353
63. Herlyn, D., Beck H., Tiems, J., 1975
Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung beim Küken
Z. Tierphysiol. Tierernäh. Futtermittelk. 35, 27
64. Herlyn, D., Schulz, V., Gropp, J., 1976
Der Einfluß von Anabolika auf die Immunantwort des
Kalbes
Anabolika in der Kälbermast, Verlag Paul Parey, 6, 66
65. Hitzig, W.H., Kenny, A.B., 1975
The role of vitamin B₁₂ and its transport globulins in the
production of antibodies
Clin. Exp. Immunol. 20, 105
66. Hochwald, A., Schwarz, H., 1937
Versuche über die Antikörperbildung nach Zufuhr von
Ascorbinsäure
Z. Immun. Forsch. 91, 227
67. Hodges, R.E., Hood, J., Canham, J.E., Sauberlich, H.E., Baker, E.M.
1971
Clinical manifestation of ascorbic acid deficiency in
man
Am. j. clin. nutr. 24, 432
68. Hodges, R.E., Bean, W.B., Ohlson, M.A., Bleiler, R.E., 1962
Factors affecting human antibody response
III. Immunologic responses of men deficient in pantothenic
acid
Am.j. clin. nutr. 11, 85
69. Hodges, R.E., Bean, W.B., 1961
Inhibition of human antibody formation by vitamin
deficiencies
Am. j. clin. nutr. 9, 244

70. Hudson, R.J., Saben, H.S., Emslie, D., 1974
Physiological and environmental influences on immunity
Vet. Bull. 44, 119
71. Humphrey, J.H., White, R.G., 1971
Natürlicher oder normaler Antikörper
In "Kurzes Lehrbuch der Immunologie"
hrsg. von E. Macher, S. 29
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
72. Humphrey, J.H., White, R.G., 1971
Rolle der Makrophagen beim ersten Kontakt mit Antigen
In "Kurzes Lehrbuch der Immunologie"
hrsg. von E. Macher, S. 180
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
73. Ignarro, L.J., Lint, T.F., George, W.J., 1974
Hormonal control of lysosomal enzyme release from human
neutrophils
J. exp. med. 139, 1395
74. Isaac Ruchman, 1946
The effect of nutritional deficiencies on the development
of neutralizing antibodies and associated changes in
cerebral resistance against the virus of Western Equine
Encephalomyelitis
J. Immun. 52, 51
75. Jackson, C.M., 1925
The effects of inanition and malnutrition on growth and
structure
Philadelphia, Blakiston
76. Jacobi, H.P., Baumann, C.A., 1942
The biochemical defect in choline-deficient rats
J. Biol. Chem. 142, 65
77. Jakob, K.H.A., Weir, D.M., 1971
Lysosomal enzyme changes in mouse spleen cells after
antigenic stimulation
Immun. 21, 419

78. Janoff, A., Mc Cluskey, R.T., 1962
Effect of excess vitamin A on acid phosphatase content
of guinea pig peritoneal leucocytes
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110, 586
79. Jansa, P., Bilek, O., 1969
Erhöhung der Peroxydaseaktivität bei Proliferationen des
RES
Fol. haematol. 21, 406
80. Jansz, A., Flad, H.D., Koffler, D., Miescher, P.A., 1967
The effect of vitamin A on experimental immune
thyreoiditis
Int. Arch. All. 31, 69
81. Joo-Szabados, T., Nemeth, C., Nemesanszky, L., Horak, T.,
Balogh, E., Kardos, M., Kovacs, M., 1974
Changes of the natural antibody levels in relation to age
and sex
Boll. Ist. sieroter. milan. 53, 2
82. Jukes, T.H., 1947
Choline
Ann. Rev. Biochem. 16, 193
83. Jungeblut, C.W., 1941
Studies on the inactivation of diphtheria toxin by vitamin C
(l-ascorbic acid)
J. infect. Dis. 62, 70
84. Jurin, M., Tannock, I.F., 1972
Influence of vitamin A on immunological response
Immun. 23, 283
85. Juszat, H.J., 1939
Über den Einfluss von Vitamin C (l-Ascorbinsäure) auf
Immunitätsvorgänge
Z. Vitaminforsch. 2, 75
86. Kolmer, J.A., 1955
Nutrition in relation to infection and immunity
In "Modern Nutrition, health and disease"
edited by M.G. Wohl & R.S. Goodhart, 1st edit., 498
Philadelphia, Lea & Febiger

87. Kumar, M., Axelrod, A.E., 1969
Circulating antibody formation in scorbutic guinea pigs
J.Nutr. 98, 41
88. Kumar, M., Axelrod, A.E., 1968
Cellular antibody synthesis in vitamin B₆ - deficient rats
J. Nutr. 96, 53
89. Krishnan, S., Bhuyan, U.N., Talwar, G.P., Ramalingaswami, V.,
1974
Effect of vitamin A and protein-calorie undernutrition
on immune responses
Immun. 27, 383
90. Kushwaha, R.P.S., Jensen, L.S., 1974
In vivo and in vitro utilization of labeled precursors for
choline synthesis in mature japanese quail as compared to
rats
J. Nutr. 104, 901
91. Lamanna, A., Taviani, L., 1955
Influenza dell'acido folico, dell'acido pantotenico e
della vitamina B₆ sulla produzione di anticorpi agglutinanti
Acta Vitam. 2, 57
92. Lamanna, A., Taviani, L., 1955
Influenza della vitamina B₆ , dell'acido folico e dell'acido
pantotenico sulla fagocitosi
Acta Vitam. 2, 61
93. Leftwich, W.B., Mirick, G.S., 1949
The effect of diet on the susceptibility of the mouse
to pneumonia virus of mice (PVM). I. Influence of pyri-
doxine in the period after the inoculation of virus
J. exp. med. 89, 155
94. Little, P.A., Oleson, J.J., Roesch, P.K., 1950
The effect of pteroylglutamic acid on some immune re-
sponses of chicks
J. Immun. 65, 491

95. Long, D.A., 1950
Ascorbic acid and the production of antibody in the guinea-pig
Brit. J. Exp. Pathol. 31, 183
96. Lombardi, B., 1971
Effects of choline deficiency on rat hepatocytes
Fed. Proc. 30, 139
97. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951
Protein measurement with the folin phenol reagent
J. Biol. Chem. 183, 265
98. Ludovici, P.P., Axelrod, A.E., 1951 a
Circulating antibodies in vitamin deficient states.
Pteroylglutamic acid, niacin-tryptophan, vitamins B₁₂, A, and D deficiencies
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 17, 526
99. Ludovici, P.P., Axelrod, A.E., 1951 b
Relative effectiveness of pantothenic acid and panthenol in stimulating antibody response of pantothenic acid-deficient rats
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, 530
100. Ludovici, P.P., Axelrod, A.E., Carter, B.B., 1949
Circulating antibodies in vitamin deficiency states.
Pantothenic acid deficiency
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 81
101. Madison R.P., Manwaring, W.H., 1937
Ascorbic acid stimulation of specific antibody production
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 37, 402
102. Manolova, E.P., 1967
The mechanism of a stimulating effect of dibazol and of the vitamin complex (B₁, B₂, B₉, PP and C) on diphtheria immunity
Zh. mikrobiologii. Epidemiologii. Immunobiol.
USSR 44, 31

103. Mayr, A., Buschmann, H., 1967
Beziehung zwischen Ernährung, Resistenz und Immunität
bei Infektionskrankheiten
Tierärztl. Umsch. 2, 443
104. Mc Coy, R.H., Sensenich, V., 1954
persönl. Mitteilung bei:
Axelrod und Pruzansky, 1955
Vitam. Horm. 13, 1
105. Mc Coy, R.H., 1949
Dietary requirements of the rat
In "The rat in laboratory investigation"
Hrsg. E.J. Farris, J.A. Griffith,
J.B. Lippincott Company, 2nd ed., 93
Philadelphia - London - Montreal
106. Mc Coy, R.H., Nair, J., 1954
persönl. Mitteilung bei:
Axelrod und Pruzansky, 1955
Vitam. Horm. 13, 1
107. Mc Conahey, P.J., Dixon, F.J., 1966
A method of trace iodination of proteins for
immunologic studies
Int. Arch. All. 29, 185
108. Mellanby, E., Green, H., 1928
Vitamin A as an anti-infective agent
Brit. Med., J. 2, 691
109. Meyer, J., Malgras, J., Ponelle, J., 1955/56
Influence de l'association vaccin + vitamine B₅ sur la
formation des anticorps
Rev. Immunol. 19/20, 414
110. Minden, P., Farr, R., 1973
The ammonium sulphate method to measure antigen-binding
capacity
In "Handbook for experimental Immunology", Bd. 1:Immuno-
chemistry, Hrsg. D.M. Weir, Blackwell Scientific Publications
Kap. 15

111. Morey, G.R., Spies, T.D., 1942
Antibody response of persons with pellagra, beriberi,
and riboflavin deficiency
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 49, 519
112. Muranyi, F., Bertok, L., Kemenes, F., 1964
The effect of various experimental pathophysiological
conditions on the antibody production.
IV. Influence of the partial deficiency of dietary ribo-
flavin
Z. Immun. Forsch. 127, 1
113. Nalder, B.N., 1972
Sensitivity of the immunological response to the
nutritional status of rats
J. Nutr. 102, 535
114. Natvig, H., 1941
Die Bedeutung der Vitamine für die Resistenz des Organis-
mus gegen bakterielle Infektionen
Skr. norsk., Vidensk. Akad. Mat. Naturv. Klasse, 2, 266
115. Niesar, K.H., 1955
Eine biochemische Wirkung des Vitamin A
Nat. Wiss. 42, 392
116. Nungester, W.J., Ames, A.M., 1948
The relationship between ascorbic acid and phagocytic
activity
J. infect. Dis. 83, 50
117. Panda, B., Combs, G.F. 1963
Impaired antibody production in chicks fed diets low in
vitamin A, panthotenic acid or riboflavin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 113, 530
118. Petersen, V., 1950
A method for the chemical determination of phospholipid
choline in plasma
Scand. J. clin. Lab. Inv. 2, 14

119. Pletsityi, D.F., Fomina, V.G., 1974
Effect of excessive doses of vitamin C on some mechanisms
of natural immunity
Bull. exp. Biol. Med. 77, 653
120. Proom, H., 1943
The preparation of precipitating sera for the identification
of animal species
J. Path. Bact. 55, 419
121. Pruzansky, J., Axelrod, A.E., 1955
Antibody production to diphtheria toxoid in vitamin
deficiency states
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 89, 323
122. Quintiliani, L., Giuliani, E., Liotta, I., 1973
Concentration of normal immunoglobulins in human
sera
Lecture at the 13th Congress of Biological Standardization.
Budapest, IX. 11
123. Raffel, S., Madison, R.R., 1938
The influence of ascorbic acid on anaphylaxis in
guinea pigs
J. infect. Dis. 63, 71
124. Rhodes, K., Scott, A., Markham, R.L., Monk-Jones, M.E., 1969
Immunological sex differences.
A study of patients with rheumatoid arthritis, their
relatives, and controls
Ann. Rheum. Dis. 28, 104
125. Richou, R., 1956
Microbiologie. - Acide pantothenique et immunité anti-
staphylococcique
C. R. Acad. Sci. 243, 111
126. Riddle, J.W., Spies, T.D., Hudson, N.P., 1940
Note on interrelationship of deficiency diseases and
resistance to infection
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 45, 361

127. Roitt, J.M., Torrigiani, G., Greaves, M.F., Brostoff, J.,
Playfair, J.H.L., 1969
The cellular basis of immunological responses
Lanc. II 76/6, 367
128. Roth, J.S., Allison, B., 1950
Effects of feeding excess DL-methionine and choline chloride
to rats on a casein diet
J. Biol. Chem. 83, 173
129. Rothenberg, S.P., da Costa, M., Siy, F., 1973
Impaired antibody response in folate deficient mice
persisting after folate repletion
Life Sci. 12, 177
130. Rowley, M.J., Mac Kay, I.R., 1969
Measurement of antibody-producing capacity in man
Clin. Exp. Immunol. 5, 407
131. Saito, R., Estes, L.W., Lombardi, B., 1975
Reduced response to phenobarbital by the liver of rats
fed a choline-deficient diet
Biochem. biophys. Acta 381, 185
132. Saslaw, S., Wilson, H.E., Doan, Ch.A., Woolpert, O.C.,
Schwab, J.L., 1946
An analysis of the roles of humoral and cellular immunity
under conditions of optimal or deficient nutrition
J. exp. med. 84, 263
133. Schneider, H.A., Lee, J.M., Olitsky, P.K., 1957
Effect of nutrition on the production of acute disseminated
encephalomyelitis in mice
J. exp. med. 105, 319
134. Schwartz, R., Stack, J., Dameshek, W., 1955
Effect of 6-mercaptopurine on antibody production
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 99, 164
135. Smith, R.E., Reynolds, I.M., 1961
Leptospirosis in hamsters on diets containing various
levels of riboflavin
Am. J. Vet. Res. 22, 800

136. Smulders, J., 1951
Recherches sur l'athrocytose discriminante dans le
système reticuloendothélial-étude qualitative et
quantitative
Arch. biol. 62, 133
137. Spitznagel, J.K., Allison, A.C., 1970
Mode of action of adjuvants: retinol and other lysosome-
labilizing agents as adjuvants
J. Immun. 101, 119
138. Spratt, M.G., Kratzing, C.C., 1971
The effect of dietary lipids and α -tocopherol on RES
activity in choline deficiency
RESJ. 10, 319
139. Spratt, M.G., Kratzing, C.C., 1970
Reticuloendothelial activity in choline-deficient or carbon
tetrachloride-treated rats
RESJ. 7, 355
140. Solarino, G., 1957
Vitamine e difese organiche
Int. Z. Vit. Forsch. 27, 373
141. Stark, J.M., 1972
Effects of vitamins and dietary factors
in "Immunogenicity", edited by F. Borek, (394)
Frontiers of Biology, 25
Amsterdam u. London: North-Holland Publ. Co
142. Stark, J.M., 1970
Rate of antigen catabolism and immunogenicity of ^{131}J BGG
in mice. II. Immunogenicity of ^{131}J BGG and adjuvant action
after alteration of the metabolic rate by various means
Immun. 19, 457
143. Steinberg, S.V., Munro, J.A., Fleming, W.A., French, V.I.,
Stark, J.M., White, R.G., 1970
The influence of adjuvants on the immunological response
of the chicken. I. Effects on primary and secondary re-
sponses of various adjuvants in the primary stimulus
Immun. 18, 635

144. Stern, K., Davidsohn, I., 1955
Effect of estrogen and cortisone on immune hemoantibodies
in mice of inbred strains.
J. Immun. 74, 479
145. Sterzl, J., 1959
Attempts to influence antibody formation and resistance
to infection in newborn animals by vitamin B₁₂
Folia microbiol. Praha, 4, 298
146. Stoerk, H.C., 1946
Effects of calcium deficiency and pyridoxine deficiency
on thymic atrophy
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 62, 90
147. Stoerk, H.C., Eisen, H.N., 1946
Suppression of circulating antibodies in pyridoxine
deficiency
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 62, 88
148. Stoerk, H.C., Eisen, H.N., John, H.M., 1947
Impairment of antibody response in pyridoxine-deficient rats.
J. exp. med. 85, 365
149. Stowe, H.D., Whitehair, G.K., 1964
Clinical pathology of tocopherol-deficient mink
Am. J. Vet. Res. 25, 1542
150. Taub, R.N., Krantz, A.R., Dresser, D.W., 1970
The effect of localized injection of adjuvant material
on the draining lymphnode
Immun. 18, 171
151. Tengerdy, R.P., Heinzerling, R.H., 1972
The effect of vitamin E on the immune response of hypoxic
and normal chickens
Ann. N.Y. Acad. Sci. 203, 177
152. Tengerdy, R.P., Nockels, C.F., 1975
Vitamin E or vitamin A protects chickens against E.coli
infection
Poul. Sci. 54, 1292

153. Tengerdy, R.P., Heinzerling, R.H., Brown, G.L., Mathias, M.M., 1973
Enhancement of the humoral immune response by vitamin E
Int. Arch. All. 44, 221
154. Terres, G., Morrison, S.L., Habicht, G.S., 1968
A quantitative difference in the immune response between male and female mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127, 664
155. Toivanen, P., 1967
Effect of estrogens on the humoral antibody response in guinea pigs
Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 45, 152
156. Trakatellis, A.C., Axelrod, A.E., 1965
Effect of pyridoxine deficiency on nucleic acid metabolism in the rat
Biochem. J. 95, 344
157. Trimble, M.E., Acara, M., Rennick, B., 1974
Effect of hemicholinium - 3 on tubular transport and metabolism of choline in the perfused rat kidney
J. Pharm. Exp. Ther. 189, 570
158. Tripodo, C., 1946
Vitamina E e produzione di anticorpi
Rass. Biol. umana. 61, 109
159. Tuerner, R.G., Loew, E., 1931
The effect of withdrawel of vitamin A on leucocyte and differential count in albino rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 28, 506
160. Uhr, J.W., Weissmann, G., 1965
Intracellular distribution and degradation of bacteriophage in mammalian tissues
J. Immun. 94, 544
161. Uhr, J.W., Weissmann, G., Thomas, G., 1963
Acute hypervitaminosis A in guinea pigs.
II. Effect on delayed-type hypersensitivity
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 287

162. Underdahl, N.R., Young, G.A., 1956
Effect of dietary intake of fat-soluble vitamins on
intensity of experimental swine influenza virus infection
in mice
Virol. 2, 415
163. Urbain-van Santen, G., 1970
Concomitant synthesis in separate cells of nonreacting
immunoglobulins and specific antibodies after immunization
with tobacco mosaic virus
Immun. 19, 783
164. Valencia, R., 1974
Le contrôle de la division cellulaire par la vitamine B₁₂
et les folates
J. Physiol. 69, 5A
165. Vitamin-Compendium, 1970
Die Eigenschaften der Vitamine und ihre Bedeutung
für die Ernährung von Mensch und Tier
Hoffmann-La Roche AG, Grenzach
166. Wachsmuth, H., van Koeckhoven, L., 1959
Contribution au dosage de la Choline dans le sérum sanguin
Clin. chim. Acta 4, 206
167. Waller, M., Curry, N., 1971
Serum agglutinators in families with twins
Immun. 21, 343
168. Warr, G.W., Sljivic, V.S., 1972
Stilboestrol-induced depression of the antibody response
Exper. 28, 1356
169. Watt, J.Y.C., 1944
The influence of vitamins B₁ (Thiamine) and B₂
(Riboflavin) upon the resistance of rats to infection
with Nippostrongylus muris
Am.J. Hyg. 39, 145
170. Wayne, L., Will, J.J., Friedman, B.I., Becker, L.S., Vilter, R.W.,
1958
Vitamin B₆ in internal medicine
Arch. int. Med. 101, 143

171. Webster, R.G. 1965

The immune response to influenza virus. I. Effect of the route and schedule of vaccination on the time course of the immuneresponse, as measured by three serological methods.

Immun. 2, 501

172. Weissmann, G., Thomas, L., 1963

Studies on lysosomes. II. The effect of cortisone on the release of hydrolases from a large granule fraction of rabbit liver induced by an excess of vitamin A

J. clin. Invest. 42, 661

173. Wells, I.C., 1955

Choline antimetabolites, inhibition of choline synthesis.

Fed. Proc. 14, 303

174. Werkman, C.H., 1923

Immunologic significance of vitamins.

I. Influence of lack of vitamins on the production of specific agglutinins, precipitins, hemolysins in the rat, rabbit and pigeon

J. infect. Dis. 32, 247

175. Wertman, K., Sarandria, J.L., 1952

Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamin deficiency states. IV. B₁₂ deficiency

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 395

176. Wertman, K., Sarandria, J.L., 1951 b

Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamin deficiency states. II. Pyridoxine and nicotinic acid deficiencies

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78, 332

177. Wertman, K., Grisley, F.D., Sarandria, J.L., 1952

Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamin deficiency states. III. Riboflavin and folic acid deficiencies

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 80, 404

178. Wertman, K., Sarandria, J.L., 1951 a

Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamin deficiency states

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76, 388

179. Wertman, K.F., Smith, L.W., O'Leary, W.M., 1954
The effects of vitamin deficiencies on some physiological factors of importance in resistance to infection.
I. Niacin-tryptophane deficiency
J. Immun. 72, 196
180. Williams, E.A.J., Gross, R.L., Newberne, P.M., 1975
Effect of folate deficiency on the cell-mediated immune response in rats
Nutr. Rep. Int. 12, 137
181. Wilson, H., Saslaw, S., Schwab, J., Woolpert, Ol, Doan, C., 1943
Nutritional deficiency and resistance to infection in monkeys
J.Am. Med. Ass. 121, 1411
182. Wolbach, S.B., Bessey, O.A., 1942
Tissue changes in vitamin deficiencies
Phys. Rev. 22, 233
183. Young, R.J., Lucas, C.C., 1955
Dietary betaine and vitamin B₁₂ in choline formation
Fed. Proc. 14, 310
184. Zilva, S.S., 1919
The influence of deficient nutrition on the production of agglutinins, complement, and amboceptor
Biochem. J. 13, 172
185. Zucker, Th. F., Zucker, L.M., Seronde, J., 1956
Antibody formation and natural resistance in nutritional deficiencies
J. Nutr. 59, 299
186. Zolotnikova, G.P., 1969
The effect of some stimulants of nonspecific proteosynthesis on the antibody-synthetic activity of hepatic and splenic explants of immunized and irradiated rabbits
Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunbiol. USSR 46, 97
187. Zweiman, B., Schoenwetter, W.F., Hildreth, E.A., 1966
The effect of the scorbutic state on the tuberculin hypersensitivity in the guinea pig
J. Immun. 96, 296

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich
Herrn Prof. DDR. DDR. h.c. Johannes Brügge-
mann, sowie Herrn Prof. Dr. Hermann Zucker
für die Überlassung des Themas und die ge-
währten Arbeitsbedingungen im Institut danken.

Frau Dr. Dorothee Herlyn sowie Herrn Dr. U.
Lösch gilt mein ganz besonderer Dank für die
mir jederzeit gewährte Anregung, Förderung
und Unterstützung meiner Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 31. Dezember 1946 wurde ich, Hubertus Glaser, als Sohn des Franz Rudolf Glaser und seiner Ehefrau Josefine, geb. Tausch, in München geboren.

Nach 4 Volksschulklassen in Gauting Lkr. Starnberg trat ich 1957 in das Gymnasium Starnberg ein und legte dort 1966 die Reifeprüfung ab. Anschließend absolvierte ich in Hinblick auf mein Studium ein einjähriges landwirtschaftliches Praktikum.

Im Wintersemester 1967 begann ich an der Tierärztlichen Fakultät München mit dem Studium der Veterinärmedizin. Dieses schloß ich im März 1973 mit dem Staatsexamen ab. Die Bestallung als Tierarzt wurde mir im April 1973 erteilt.

